

Série A, N° 1934  
N° d'ordre 2801

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES  
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Jean RENAUD**

PRÉPARATEUR DE BIOLOGIE VÉGÉTALE A LA SORBONNE

---

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — Les Levures des vins du Val de Loire.  
Recherches morphologiques, biologiques  
et cytologiques.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1941, devant la Commission d'examen

MM. GUILLIERMOND... *Président.*  
COMBES ..... } *Examineurs.*  
MANGENOT..... }

---

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

4, RUE DANTE, 4

---

1941



LES LEVURES DES VINS  
DU  
VAL DE LOIRE

---

RECHERCHES  
MORPHOLOGIQUES, BIOLOGIQUES  
ET CYTOLOGIQUES



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41553007\\_0002](https://archive.org/details/IA41553007_0002)

Série A, N° 1934  
N° d'ordre 2801

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES  
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Jean RÉNAUD**

PRÉPARATEUR DE BIOLOGIE VÉGÉTALE A LA SORBONNE

---

1<sup>re</sup> THÈSE. — Les Levures des vins du Val de Loire.  
Recherches morphologiques, biologiques  
et cytologiques.

2<sup>e</sup> THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1941, devant la Commission d'examen

MM. GUILLIERMOND... *Président.*

COMBES ..... }  
MANGENOT..... } *Examineurs.*

---

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

4, RUE DANTE, 4

---

1941

# Faculté des Sciences de l'Université de Paris

MM.

*Doyen honoraire.* M. MOLLIARD.

*Doyen.....* C. MAURAIN, *Professeur, Physique du Globe.*

|                              |                 |              |              |              |
|------------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>Professeurs honoraire</i> | H. LEBESQUE.    | DANGEARD.    | L. LAPICQUE. | DUBOSQ.      |
|                              | Émile PICARD.   | LESPIEAU.    | G. BERTRAND. | BOHN.        |
|                              | Léon BRILLOUIN. | MARCHIS.     | ABRAHAM.     | RABAUD.      |
|                              | PÉCHARD.        | VESSIOT.     | Ch. FABRY.   | M. CAULLERY. |
|                              | FREUNDLER.      | P. PORTIER.  | L. BERTRAND. | Jean PERRIN. |
|                              | AUGER.          | M. MOLLIARD. | WINTREBERT.  | E. CARTAN.   |

## PROFESSEURS

|                                 |                                                       |                              |                                                   |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------|
| Émile BOREL...T                 | Calcul des probabilités et Physique mathém.           | P. JOB.....                  | Chimie générale.                                  |
| A. COTTON...T                   | Recherches physiques.                                 | LABROUSTE.....               | Physique du Globe.                                |
| J. DRACH...T                    | Analyse supérieure et Algèbre supérieure.             | PRENANT.....T                | Anatomie et Histologie comparées.                 |
| Charles PÉREZ.T                 | Zoologie.                                             | VILLEY.....                  | Mécanique physique et expérimentale.              |
| M. GUICHARD..T                  | Analyse et Mesures chimiques.                         | COMBES.....T                 | Physiologie végétale.                             |
| Paul MONTEL..T                  | Théorie des fonctions et Théorie des transformations. | GARNIER.....T                | Application de l'analyse à la géométrie.          |
| L. BLARINGHEM.T                 | Botanique.                                            | PÉRÈS.....                   | Mécanique théorique des fluides.                  |
| G. JULIA.....T                  | Mécanique analytique et Mécanique céleste             | HACKSPILL...T                | Chimie minérale.                                  |
| C. MAUGUIN..T                   | Minéralogie.                                          | TOUSSAINT.....               | Technique Aéronaut.                               |
| A. MICHEL-LÉVY..T               | Pétrographie.                                         | M. CURIE.....                | Physique (P. C. B.).                              |
| A. DENJOY...T                   | Géométrie supérieure.                                 | G. RIBAUD...T                | Hautes températures.                              |
| L. LUTAUD...T                   | Géographie physique et géologie dynamique.            | CHAZY.....T                  | Mécanique rationnelle                             |
| Eugène BLOCH.T                  | Physique.                                             | GAULT.....                   | Chimie (P. C. B.).                                |
| G. BRUHAT...T                   | Physique théorique et physique céleste.               | CROZE.....                   | Recherches physiques.                             |
| E. DARMOIS...T                  | Enseignement de Physique.                             | DUPONT...T                   | Théories chimiques.                               |
| A. DEBIERNE..T                  | Physique Générale et Radioactivité.                   | LANQUINE...T                 | Géologie structurale et géologie appliquée.       |
| A. DUFOUR...T                   | Physique (P. C. B.).                                  | VALIRON.....                 | Mathématiques générales.                          |
| L. DUNOYER...T                  | Optique appliquée.                                    | BARRABÉ.....                 | Géologie structurale et géologie appliquée.       |
| A. GUILLIERMOND.T               | Botanique.                                            | MILLOT.....                  | Biologie animale (P. C. B.).                      |
| M. JAVILLIER..T                 | Chimie biologique.                                    | F. PERRIN.....               | Théories physiques.                               |
| ROBERT-LÉVY.T                   | Physiologie comparée.                                 | VAVON.....                   | Chimie organique.                                 |
| Henri VILLAT..T                 | Mécanique des fluides et applications.                | G. DARMOIS....               | Calcul des Probabilités et Physique Mathématique. |
| Ch. JACOB....T                  | Géologie.                                             | CHATTON....T                 | Biologie maritime.                                |
| P. PASCAL....T                  | Chimie générale.                                      | AUBEL.....                   | Chimie biologique.                                |
| M. FRÉCHET...T                  | Calcul différentiel et Calcul intégral.               | Jacques BOURCART.            | Géographie physique et Géologie dynamique.        |
| E. ESCLANGON.T                  | Astronomie.                                           | M <sup>me</sup> JOLIOT-CURIE | Physique générale et Radioactivité.               |
| M <sup>me</sup> RAMART-LUCAS..T | Chimie organique.                                     | PLANTEFOL....                | Biologie végét. (P.C.B.)                          |
| H. BÉGHIN...T                   | Mécanique physique et expérimentale.                  | CABANNES....                 | Enseig. de Physique.                              |
| FOCH.....T                      | Mécanique expérimentale des fluides.                  | GRASSÉ.....                  | Biologie animale (P.C.B.).                        |
| PAUTHENIER...T                  | Physique (P. C. B.).                                  | PRÉVOST.....                 | Chimie (P.C.B.).                                  |
| De BROGLIE...T                  | Théories physiques.                                   | BOULIGAND...T                | Mathématiques.                                    |
| CHRÉTIEN.....                   | Optique appliquée.                                    | CHAUDRON....                 | Chimie (P.C.B.).                                  |
|                                 |                                                       | CHATELET.....                | Arithmétique sup.                                 |
|                                 |                                                       | CARTAN H.....                | Calcul différentiel.                              |

*Secrétaire .....* A. PACAUD.

*Secrétaire honoraire...* D. TOMBECK.



A MON MAÎTRE

Monsieur A. GUILLIERMOND

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA SORBONNE

*avec l'expression de ma respectueuse reconnaissance.*



*A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE*



# LES LEVURES DES VINS DU VAL DE LOIRE

---

## RECHERCHES MORPHOLOGIQUES, BIOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES par M. Jean RENAUD

---

### I

## INTRODUCTION

Les Levures rencontrées à la surface des raisins mûrs ou dans les lies des vins après fermentation forment un vaste groupe dont les propriétés biologiques sont encore mal connues.

Les œnologues et les vignerons pensent qu'il existe, dans chaque vin, une microflore des Levures spéciales, ayant acquis des propriétés physiologiques particulières, relativement stables et différentes de celles des Levures d'un autre vin. Le levurage des moûts de raisins communs, comme ceux que produisent les vignes hybrides, par des Levures isolées d'un vin réputé est une opération œnologique assez courante, basée précisément sur cette hypothèse. Mais si les Levures expérimentales sont susceptibles d'améliorer le vin traité, doit-on en déduire, pour cela, que les microflores des deux vins se composent d'espèces différentes ? Cette question, à notre connaissance, n'a jamais été étudiée.

Dans ce travail, nous nous sommes efforcé d'y répondre, dans une certaine mesure, en examinant et comparant un très grand nombre de races recueillies dans douze vins très connus, provenant du Val de Loire.

Mais la détermination d'une Levure ne consiste pas à examiner simplement la forme de ses cellules en culture pure. Elle repose en partie sur l'étude des propriétés biologiques, comme le pouvoir sporogène, les phénomènes sexuels et les caractères biochimiques. Enfin, elle tire profit des recherches cytologiques. Nous avons donc été amené naturellement à envisager, en même temps, d'autres problèmes généraux relatifs à la biologie des Levures du genre *Saccharomyces*: problèmes remis à l'ordre du jour par de récents travaux.

Nous avons examiné notamment le mode de division nucléaire au cours du bourgeonnement des zygospores et des cellules. D'autre part, nous avons cherché à préciser les affinités du genre *Saccharomyces* avec les Champignons plus évolués comme les Exoascées. Notre travail comprend donc essentiellement deux parties :

La première débute par un exposé des techniques utilisées au cours des prélèvements, des triages et des épreuves de détermination. Elle est consacrée à l'étude des caractères des espèces isolées. L'ensemble représente une monographie des Levures du vin, analogue à la monographie des Levures sporogènes de M. N. STELLING-DEKKER [80]. Toutes les photographies des colonies géantes des espèces, obtenues sur moût gélatiné, s'y trouvent reproduites.

Dans la seconde partie, nous avons confronté les résultats obtenus au cours des recherches sur la morphologie des cellules, la sporulation, la sexualité, les propriétés biochimiques, la culture des espèces sur milieux gélosé et gélatiné. Cette comparaison nous a fourni un ensemble de données générales sur le groupe des Levures du vin.

On trouvera de même, dans ces chapitres, l'exposé des recherches cytologiques relatives au mode de division du noyau et à l'apparition du dicaryon dans quelques espèces favorables.

\*  
\* \*

Nous tenons à exprimer notre plus vive gratitude à M. le Professeur GUILLIERMOND, Membre de l'Institut, professeur à la Sorbonne, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous prodiguer ses précieux conseils avec une inlassable bienveillance. La biologie des Levures est une science délicate exigeant du

chercheur une très longue expérience. Livré à nous-même, nous n'aurions pas su mener ce travail à bonne fin. Pendant cinq ans, au Laboratoire de botanique de la Sorbonne, nous avons eu le privilège de profiter de sa compétence universellement connue. Nous le prions d'accepter respectueusement nos vifs remerciements.

Nous tenons aussi à évoquer, avec une respectueuse reconnaissance la mémoire du Professeur SCHOEN qu'une maladie cruelle enleva prématurément au service des fermentations de l'Institut Pasteur de Paris. Eminent disciple de l'école pastorienne, ce maître était aimé de tous pour sa simplicité et sa bonté exemplaires. Il suivit constamment notre travail avec une sympathie affectueuse que nous n'oublierons jamais.

Pour l'illustration photographique de nos recherches, nous avons bénéficié sans réserves du concours de M. JEANTET, chef du service photographique de l'Institut Pasteur. Grâce à son habileté réputée, nous avons pu reproduire quelques-unes de nos préparations cytologiques. Cette reproduction dépasse de beaucoup les possibilités d'un photographe amateur. Son aide nous fut donc extrêmement précieuse et nous l'en remercions très chaleureusement.

Nous voulons remercier également M. le Professeur MATHIEU, ancien directeur des stations œnologiques de Beaune et de Bordeaux et M. FERRÉ, directeur actuel de la station de Beaune auprès desquels nous avons acquis les notions d'œnologie indispensables à toutes les recherches sur la vinification.

Nous remercions de même M. MOREAU, directeur de la Station œnologique d'Angers et M. DEPARDON, directeur du Laboratoire œnologique de Blois qui, à diverses reprises, nous ont conseillé avec une grande obligeance.

Nous voulons aussi témoigner notre reconnaissance à la confédération des viticulteurs du Centre-Ouest et tous les viticulteurs du Val de Loire, qui se mirent aimablement à notre disposition pour nous procurer le matériel nécessaire à nos recherches.

Nous exprimons notre cordiale gratitude à tous nos camarades de Laboratoire. Leur dévouement en maintes circonstances nous fut très précieux.

Nous remercions enfin très sincèrement la Fondation ARCONATI qui, pendant deux ans, nous a aidé matériellement à mener ce travail à bonne fin.



## HISTORIQUE

Les phénomènes de fermentation attirèrent la curiosité des savants à toutes les époques de l'histoire. Au moyen-âge, notamment, les alchimistes s'intéressèrent vivement au tumultueux bouillonnement qui se manifeste dans les tonneaux, au cours de la vinification. Ils s'efforcèrent, sans y parvenir, d'en trouver une explication satisfaisante. LAVOISIER [43], le premier, analysa le mécanisme chimique de la fermentation alcoolique. En 1789, il écrivait : « Les effets de la fermentation vineuse se réduisent donc à séparer en deux portions le sucre qui est un oxyde, à oxygéner l'une aux dépens de l'autre pour former l'acide carbonique, à désoxygéner l'autre en faveur de la première pour en former une substance combustible qui est l'alcool ; en sorte que, s'il était possible de recombiner les deux substances, l'alcool et l'acide carbonique, on reformerait du sucre »... Les conclusions de LAVOISIER furent ensuite vérifiées et précisées par les travaux de GAY-LUSSAC et THENARD [83] puis ceux de DUMAS et BOULAY [21]. Mais ces différents auteurs ignorèrent l'existence des Levures, car ils analysèrent le phénomène au point de vue chimique, sans en rechercher la cause. En 1859, PASTEUR [63, a], au cours de recherches fondamentales, montra que la fermentation alcoolique est due à l'activité vitale des Levures.

A partir de cette époque, le problème présenta un nouvel intérêt et les biologistes étudièrent la vie de ces champignons, leurs affinités systématiques et leur circulation dans la nature.

PASTEUR [63, b] se ralliant à une hypothèse de BREFELD [7] écrivait au sujet de leur origine : « Les cellules des Levures naissent de tels ou tels petits corps brunâtres que le microscope découvre en si grande abondance dans la poussière des fruits... » Il s'agissait de kystes de *Dematium*, Champignons très répandus

sur les fruits et les feuilles et donnant naissance au cours de leur développement à des conidies-levures semblables aux Levures. CHAMBERLAND montra que les conidies-levures de *Dematium* ne produisent pas de fermentation alcoolique et l'hypothèse fut rapidement abandonnée. La notion d'espèce n'est pas aussi évidente chez les Levures que chez les végétaux supérieurs et les observations morphologiques, trop superficielles, ne permettaient pas de résoudre, à cette époque, une question aussi complexe. Examinés en mélange, les nombreux germes rencontrés à la surface des fruits mûrs ou dans les milieux en fermentation ne se distinguent pas nettement les uns des autres, même lorsqu'ils appartiennent à des espèces souvent très différentes. Aussi les erreurs analogues à celle de BREFELD étaient-elles très fréquentes. La mise au point de méthodes dichotomiques, capables de séparer et définir les espèces était nécessaire pour aborder avec fruit la plupart des problèmes suggérés par la découverte pastorienne et la morphologie des Levures n'est devenue une véritable science qu'à la suite de recherches persévérantes poursuivies depuis cette époque jusqu'à nos jours. Dans l'histoire des progrès réalisés pendant soixante ans, il convient de distinguer plus particulièrement trois étapes : la découverte de la méthode des cultures pures, les études sur les caractères spécifiques des espèces et enfin les recherches sur les affinités des Levures avec les autres champignons.

Après avoir démontré l'impossibilité de la génération spontanée, PASTEUR songea à cultiver chaque germe isolément, dans un milieu nutritif stérilisé et placé à l'abri des contaminations ultérieures. Les causes d'erreurs dues à la présence d'autres germes se trouvant éliminées, on était sûr que, de cette manière, les observations morphologiques, biologiques ou physiologiques se rapportaient rigoureusement à l'espèce envisagée. Cette méthode, connue sous le nom de « méthode des cultures pures », est à la base de tous les progrès en microbiologie. Elle devint pratiquement très commode lorsque HANSEN [32, d] indiqua le moyen d'isoler les germes par des dilutions progressives. Actuellement il est possible de choisir les germes en les isolant, grâce au micromanipulateur inventé par DE FONTBRUNE [14].

Toutefois, les caractères cellulaires sont généralement assez identiques, même pour des espèces très différentes. De plus, ils

varient avec l'âge de la culture et la nature du milieu nutritif utilisé. Le seul examen microscopique des cultures pures apparut donc tout de suite insuffisant pour la détermination des Levures.

La notion d'espèce se précisa considérablement avec les belles recherches d'HANSEN [32]. Le savant mycologue danois étudia le polymorphisme cellulaire, la formation des voiles, la sporulation, l'influence de la température et le comportement des espèces vis-à-vis des principaux sucres (monoses, bioses, trioses). Il fit connaître un ensemble de caractères spécifiques persistant à travers les variations. « En y regardant de près, écrivait-il, les Levures sont à peine plus variables que les végétaux supérieurs, mais leur génération se produit avec beaucoup plus de rapidité et par suite, les phénomènes de variation apparaissent beaucoup plus vite... » Les méthodes dichotomiques préconisées par HANSEN ont apporté aux études sur les Levures, une précision inconnue dans les recherches analogues sur les autres groupes mycologiques. L'étude des caractères des colonies géantes des espèces, proposée par LINDNER [44, a], complète les méthodes d'HANSEN.

Jusqu'à cette époque, le problème de l'origine des Levures, déjà envisagé au début de cet historique, faisait l'objet d'hypothèses purement théoriques et souvent contradictoires. HANSEN [32, a, b, f, j] étudia d'abord la circulation du *Saccharomyces apiculatus* dans la nature, puis il étendit ses observations aux espèces sporogènes et montra que les Levures séjournaient, pendant l'hiver, à l'état de vie latente, dans le sol des vignobles, des jardins et des vergers et se rencontraient toujours dans les poussières de l'air, pendant l'été, de juin à octobre. Il les considéra comme des Champignons autonomes. Les recherches de BERLESE et celles de MULLER-THURGAU aboutirent à des conclusions analogues. En 1883, BOUTROUX [6] constata que les insectes jouaient un grand rôle dans la propagation des Levures. Mais ces résultats furent critiqués par HANSEN. Plus récemment, SCHÆLLHORN [74] montra que les nectars des fleurs pouvaient servir d'habitat aux Levures. Toutefois, cet auteur ne rencontra que des *Torula*, c'est-à-dire des Levures asporogènes et ne faisant fermenter que les monoses.

HANSEN [32, c] avait constaté que la sporulation est un phénomène très général ; il assimila la cellule sporifère à un asque et rangea les Levures dans le groupe Ascomycètes. Mais cette hypothèse,

déjà soutenue par RESS [66] et DE BARY [4], reposait sur des bases peu solides car la structure des cellules était très mal connue. La question du noyau, notamment, était très discutée et certains auteurs soutenaient que les Levures avaient un noyau diffus, comme les Bactéries.

En 1901, sur diverses Levures (*S. ellipsoideus*, *pastorianus*, *cerevisiae*), GUILLIERMOND [29, a] montra l'existence d'un noyau possédant une structure différenciée comparable à celle des noyaux décrits chez les Ascomycètes supérieurs. D'autre part, il décrivit [29, b] sur les *Schizosaccharomyces octosporus* et *pombe* des cas typiques de conjugaisons isogamiques accompagnées de fusion nucléaire. La zygospore devient la cellule-mère de l'asque, le noyau se divise par deux mitoses successives et les asques apparaissent. Ces importants résultats permirent de classer définitivement les Levures dans le groupe des Ascomycètes et mirent fin aux controverses sur leur origine, en montrant qu'elles sont autonomes.

A la même époque, BARKER [3], signala un acte sexuel analogue dans une autre Levure et créa le genre *Zygosaccharomyces*. L'existence d'une sexualité à l'origine des asques a été retrouvée depuis, par GUILLIERMOND [29, i], sur diverses espèces, comme les *Schizosaccharomyces mellacei* et *Zygopichia Chevalieri*.

Mais le phénomène n'est pas général et beaucoup d'autres Levures, comme le *Saccharomycodes Ludvigii* et *Saccharomyces Johanisbergensis II* forment directement des asques, sans fusion préalable entre deux cellules végétatives. En 1903, GUILLIERMOND [29, e] montra que les ascospores de *Saccharomycodes Ludvigii* se conjuguent deux à deux au moment de leur germination. Il établit, d'autre part, que cette fusion est accompagnée d'une caryogamie. En 1905, il retrouva un acte sexuel identique sur le *Saccharomyces Johanisbergensis II*. Mais à cette époque, on ne connaissait pas d'exemple d'Ascomycètes présentant une telle sexualité. Les deux Levures précédentes furent considérées comme des cas aberrants et les résultats de GUILLIERMOND furent d'abord critiqués par DANGEARD [46], puis KNIEP [38]. Mais ce mode de sexualité est extrêmement répandu et fut retrouvé successivement par MARCHAND [49], NEGRONI [59], CAPITAIN [8] et RENAUD [67, a] sur des Levures isolées de milieux très variés.

Dans le cas du *Saccharomycodes Ludvigii* toutes les ascospores

se conjuguent, deux à deux, au moment de la germination. Mais dans toutes les autres espèces, une certaine proportion d'ascospores germent directement et donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui, pendant longtemps, ne retiennent pas l'attention. KRUIS et SATAWA [40], WINGE [85] et GUILLIERMOND [29, n. o] ont étudié successivement le devenir de ces cellules et constaté qu'elles se fusionnent bientôt, deux à deux, pour former des zygo-spores identiques à celles qui résultent de l'union des ascospores.

Récemment, WINGE et LAUSTSEN [86, b, c] ont montré que l'acte sexuel pouvait s'accomplir entre deux ascospores provenant de races différentes et donnait naissance, dans ce cas, à une nouvelle race hybride.

Les phénomènes sexuels jouent donc un rôle fondamental dans l'évolution des espèces. Ils servent de base à la phylogénie des Levures établie par GUILLIERMOND [29, n. o].

\*  
\* \* \*

En marge des travaux précédents sur la biologie générale des Levures, depuis les découvertes de Pasteur jusqu'à nos jours, de nombreuses recherches ont été faites sur les Levures du vin et leur rôle dans la vinification. PASTEUR [63, b] lui-même écrivait en 1876 : « ...Le goût, la qualité du vin dépendent certainement pour une grande part de la nature spéciale des Levures qui se développent au cours de la fermentation de la vendange... ». En 1884, dans une note à l'Académie des Sciences «... Sur la puissance de la Levure des vins cultivée...», ROMIER signalait que les vins issus des Levures pures étaient plus riches en alcool que ceux produits par la vinification naturelle. En 1888, MARX [52], à la suite d'une étude sur les Levures des meilleurs vins français, montrait la multiplicité des races et préconisait la vinification par Levures pures.

Les travaux de nombreux auteurs, comme MARTINAND [51], FORTI [25], MULLER-THURGAU [55, a, b], WORTMANN [88], ADERHOLD [1], KAYSER [36], OSTERWALDER [62, a, b], CHODAT et LENDNER [12], MUSSO [56], NITescu [60], STEINER [79], aboutirent à des conclusions analogues. Toutefois, désireux surtout d'obtenir des résultats présentant un intérêt pratique, tous ces auteurs s'intéressèrent plus spécialement aux propriétés chimiques des ferments

isolés. On doit à SEMICHON [78] un intéressant travail sur la sélection physiologique des ferments par l'alcool élaboré au cours de la vinification. Au départ de la fermentation, il existe deux catégories de Levures dans les moûts de raisins : les Levures apiculées et les Levures elliptiques. Les premières très abondantes, se reconnaissent aisément par leurs cellules en forme de poire ou de citron. Elles sont considérées comme de mauvaises Levures au point de vue du rendement alcoolique et de la qualité des produits fermentés. Les secondes, de forme généralement elliptique, sont beaucoup moins nombreuses. Lorsque la concentration alcoolique atteint 4°, le pouvoir antiseptique de l'alcool arrête le développement des Levures apiculées et la vinification se poursuit exclusivement par les Levures elliptiques. L'action de l'alcool peut donc être utilisée pour éliminer Les Levures apiculées. En mélangeant par exemple du vin avec le jus de raisins en proportions convenables, on amènera d'emblée la concentration alcoolique à 4°, et toute la fermentation sera assurée par les Levures elliptiques. Ce type de fermentation est connu sous le nom de « fermentation super-quatre ». Malheureusement SEMICHON n'a pas cherché à caractériser avec précision les Levures elliptiques, installées dans le milieu à partir de 4° d'alcool.

On a vu précédemment l'importance fondamentale que présentent les phénomènes sexuels dans la classification. Or, aucun des auteurs mentionnés ne s'est intéressé à la question. Les données morphologiques trop incomplètes, ne permettent pas de comparer et de rapprocher fructueusement les espèces décrites. Il en résulte qu'actuellement, au point de vue biologique, la microflore des Levures du vin est encore peu connue.

---

III

## PREMIÈRE PARTIE

MONOGRAPHIE DES LEVURES DES VINS  
DU VAL DE LOIRE



## Milieux et Techniques

*Prélèvement et milieu de culture.* — Les Levures se rencontrent à la surface des raisins mûrs, associées à d'autres Champignons : *Mucor*, *Penicillium*, *Dematium* et à des Bactéries comme les Bactéries acétiques. Le jus qui s'écoule du pressoir est doncensemencé naturellement par une flore de micro-organismes variés. Mais les différentes espèces de Levures n'ont pas toutes une égale importance dans la vinification. Les Levures apiculées, caractérisées par des cellules en forme de poire ou de citron, disparaissent, notamment, dès que la concentration alcoolique atteint quatre degrés. Le terme de « Levures de vin » s'applique, plus particulièrement, à celles qui continuent de se développer pendant toute la durée de la fermentation et qui constituent la grosse partie des lies, auxquelles elles communiquent une odeur particulière.

Les Levures étudiées dans ce travail ont été isolées des principaux vins du Val de Loire : Quincy, Pouilly-sur-Loire, Sauvignon, Mont, Gris-Meunier, Bourgueil, Vouvray, Saumur, Anjou, Muscadet nantais. Les prélèvements ont été faits en fin de fermentation, suivant nos indications, par les viticulteurs eux-mêmes ou par un agent de la Confédération générale des Vignerons du Centre-Ouest. Ils ont été transportés aseptiquement au laboratoire, dans des flacons analogues à ceux employés dans le commerce des Levures pures. Dès leur arrivée, les ferments ont été réactivés par un ensemencement sur moût de bière liquide.

Nous avons toujours utilisé le moût de bière, liquide ou gélosé à 1,8% ou gélatiné à 12% comme milieu de culture. Le moût bière convient parfaitement à la vie des Levures et présente une constitution chimique beaucoup plus constante que celle du jus de raisins.

*Triage des races.* — Nous avons suivi, au cours des triages, les techniques bactériologiques habituelles.

Tous les tubes de moût liquide, ensemencés avec les différents

échantillons de lies à analyser, étaient entrés en fermentation au bout de 24 heures. Au moment du triage, nous avons remis les dépôts en suspension, dans le liquide surnageant, en insufflant de l'air à l'aide d'une pipette Pasteur. Nous avons ensuite dilué, progressivement, 1 centimètre cube de lie, d'abord sur une série de tubes de moût liquide, puis en dernier lieu sur un tube de moût gélatiné à 10%, liquéfié et tiède. Enfin, cette dernière dilution était versée en boîte de Pétri. Au bout d'une quinzaine de jours, les cellules en bourgeonnant isolément, avaient produit des colonies séparées, sur lesquelles nous pouvions reconnaître les différentes espèces présentes dans le mélange. Chaque boîte de Pétri ne doit pas contenir plus d'une centaine de colonies pour que celles-ci se développent normalement. Plus nombreuses, elles restent petites et se différencient mal. D'autre part, l'épaisseur de la couche de gélatine de chaque boîte ne doit pas dépasser quelques millimètres. Les germes inclus dans une couche de 1 centimètre par exemple se développent presque exclusivement en profondeur et ne présentent aucune différenciation. Nous arrivions, assez facilement, à ensemencer une centaine de colonies par boîte, en prenant le soin de contrôler l'état de la dilution sur gélatine à l'aide de boîtes de Pétri à fenêtre ou « boîtes de Baarn ». L'eau distillée stérile, employée généralement comme milieu de dilution, entraîne une brusque augmentation de la pression osmotique dans les cellules et risque de les faire éclater. Les agrégats de cellules ou les colonies de Levures de vin sont formés d'éléments qui se désagrègent très facilement, au cours des dilutions, surtout si l'on favorise cette séparation par insufflation d'air, dans le liquide, à l'aide de la pipette Pasteur. Nous avons donc utilisé le moût de bière liquide de préférence à l'eau distillée.

Pour chaque mélange de Levures étudié, nous avons préparé cinq boîtes de Pétri. L'analyse de la microflore des Levures de chaque vin portait donc sur un total d'environ cinq cents colonies. Sur celles-ci, suivant les vins, nous pouvions reconnaître de deux à dix espèces de Levures différentes. Toutes les espèces, après isolement, ont été cultivées sur moût gélosé.

*La morphologie des cellules.* — Les Levures sporogènes conservées au Laboratoire de culture des champignons de Baarn (Hollande)

ont été décrites, par Mme M.N. STELLING-DEKKER [80], après 72 heures de culture, sur moût gélosé à 1,8%, à la température de 25°. Au cours de notre étude sur la morphologie des cellules de Levures de vin, nous avons adopté les mêmes conventions. Les conditions de développement étant les mêmes pour toutes les cultures, à l'aide des résultats obtenus, nous avons pu comparer, avec certitude, les caractères cellulaires des différentes races isolées.

Chaque espèce de Levure renferme toujours plusieurs types de cellules. Mais, comme l'a fait remarquer HANSEN, l'un d'eux domine généralement sur les autres et peut être considéré comme le type de l'espèce envisagée. Dans chaque espèce, nous avons signalé tous les types rencontrés. Mais nous avons étudié, plus spécialement, le type dominant ou type de cette espèce. Beaucoup de dessins de cellules n'ont pas été reproduits car nous avons estimé que la photographie de la colonie géante est un document plus caractéristique d'une espèce que le dessin de ses cellules.

Les cellules des Levures de vin se rangent en trois types principaux : les types *cerevisiae*, *ellipsoideus* et *pastorianus*. Les cellules sont ovoïdes dans le premier type, elliptiques dans le second et allongées en forme de saucisse dans le troisième. Mais certaines races, assez répandues, sont caractérisées par des cellules plus allongées que celles du type *ellipsoideus* et plus courtes que celles du type *pastorianus*. Il nous a semblé logique de les grouper en un type intermédiaire, appelé type *ellipsoideo-pastorianus*.

*La sporulation et les phénomènes sexuels.* — La sporulation des Levures du genre *Saccharomyces* s'obtient en ensemençant des cellules jeunes, chargées de substances de réserves, sur différents milieux, comme le bloc de plâtre, les tranches de carotte ou de pomme de terre, la gélose de GORODKOWA [28]. Nous avons toujours utilisé ce dernier milieu dont voici la formule :

|                         |                         |
|-------------------------|-------------------------|
| Eau distillée.....      | = 1.000 cm <sup>3</sup> |
| Gélose.....             | = 10 gr.                |
| Peptone.....            | = 10 gr.                |
| Bouillon de viande..... | = 5 cm <sup>3</sup> .   |
| Na Cl.....              | = 5 gr.                 |
| Glucose.....            | = 2,5 gr.               |

La proportion de 10 gr. de gélose par litre nous a semblé trop faible ; après stérilisation à l'autoclave, à 110°, le milieu manque de

consistance. Nous avons utilisé, de préférence, les milieux gélosés à 15 gr. par litre. Au cours des recherches sur la parthénogénèse (voir chapitre sur la sexualité), au lieu du Gorodkowa, nous nous sommes servi du bloc de plâtre sur lequel le bourgeonnement s'arrête très vite. Le bloc de plâtre permet d'obtenir des cycles évolutifs limités à quelques cellules. Certaines races ne sporulent jamais, quel que soit le milieu adopté. Mais, parfois quelques ascospores se forment et, au cours de l'examen microscopique, passent inaperçues, au milieu des cellules végétatives. Avant de conclure qu'une race est asporogène, il est indispensable de chercher à augmenter la proportion d'ascospores, par chauffage de la culture sporulée, à une température capable de détruire les cellules végétatives sans altérer la vitalité des ascospores. Pour ce traitement, nous avons opéré de la manière suivante : la culture sporulée est exposée, en boîte de Pétri, sur une lame flambée, pendant 12 heures, à la température de 55°. Ensuite, la culture est diluée dans une goutte de moût stérile, reprise à la pipette Pasteur et ensemencée sur moût gélosé.

Les ascospores des Levures de vin, sont toutes uniformément sphériques. Mais, dans une même race, elles ont, souvent, des dimensions très variables. Nous avons, dans chaque cas, indiqué, d'une part, les dimensions moyennes et, d'autre part, les minima et maxima observés.

Pour toutes les races isolées, l'étude des phénomènes sexuels a été faite en chambre de Van Tieghem et Le Monnier, sur goutte pendante de moût gélosé. Voici la méthode employée. La culture sporulée est diluée dans 10 centimètres cubes de moût gélosé liquéfié et tiède. Une goutte de cette dilution est ensuite prélevée à l'aide d'une baguette de verre et appliquée sur une lamelle flambée. Après solidification de la gélose par refroidissement, à l'aide de vase-line stérile, la lamelle est fixée sur une chambre de Van Tieghem contenant quelques gouttes d'eau. Avec des races vigoureuses, comme celles que l'on isole de la nature, la germination des ascospores est très rapide. En ensemencant le soir, vers 19 heures, sur des chambres placées à la température du laboratoire, les phénomènes sexuels s'observent pendant la journée du lendemain. L'étude en chambre de Van Tieghem ne porte que sur un petit nombre d'ascospores. Pour les races évoluant vers la parthénogénèse, ce nombre est trop

restreint. Dans ce cas, elle doit être complétée, par une germination massive d'ascospores, suivie d'examens entre lame et lamelle.

Le remarquable micromanipulateur de DE FONTBRUNE et COMMANDON [14] permet d'isoler les ascospores de races différentes et de créer, expérimentalement, par copulation, de nouvelles races hybrides.

*Les températures maxima, optima et minima pour le bourgeonnement et la sporulation.* — Les Levures du vin étant très ressemblantes, les températures maxima, optima et minima pour le bourgeonnement et la sporulation sont très peu différentes d'une race à l'autre. Nos recherches ont été faites sur six races, très distinctes par l'ensemble de leurs caractères morphologiques et biologiques.

Pour déterminer les températures maxima, 4 séries de 6 tubes de moût gélosé, ensemencés avec les six races en question, ont été placés dans des étuves électriques réglées entre 38 et 44 degrés. Une série à 38°, une seconde à 40°, une troisième à 42° et la quatrième à 44°. L'ensemencement était fait à partir de souches jeunes, en touchant simplement la surface de la gélose au fil de platine. Pour toutes les températures inférieures à la limite maxima, les cultures se développent en formant une petite colonie. Lorsque la limite est atteinte, il y a inhibition du bourgeonnement.

Les températures optima ont été déterminées, assez exactement, en mesurant, pour les différentes races, le diamètre des colonies, obtenues à 25° — 27° — 29° — 31° — 33° — 35°, sur moût gélosé en boîte de Petri. Le moût gélosé tiède était versé, avec les précautions aseptiques nécessaires, dans les boîtes stérilisées. Après solidification du moût, celles-ci étaient ensemencées et placées à l'étuve. L'eau de condensation, qui se forme, a tendance à désagréger les colonies. Cet inconvénient ne se produit plus en prenant soin de retourner les boîtes, de façon que la couche de gélose se trouve placée à la partie supérieure.

Pour chaque température, les colonies ont été mesurées à deux reprises, au bout de 4 et de 6 jours.

Ne disposant pas de glacière à température suffisamment constante, il nous fut impossible de déterminer, avec précision, les limites minima du bourgeonnement. Une seule observation a été faite sur des cultures placées, pendant un mois, dans une glacière,

dont la température s'est maintenue, pendant ce temps, entre 1° et 3°.

Les observations sur les températures maxima, optima et minima pour la sporulation, ont été faites sur milieu de Gorodkowa.

La recherche d'ascospores dans trois séries de cultures des six races en question, placées respectivement à 35°, 38° et 45°, nous a permis de fixer, approximativement, les températures maxima de sporulation.

Pour déterminer les températures optima, 3 séries de cultures sur Gorodkowa ont été placées, respectivement, à 25°, 30° et 35°. Nous avons ensuite recherché la vitesse de sporulation de toutes les races à ces différentes températures. Nous n'avons pu faire qu'une seule observation sur les limites minima : entre 1° et 3°, au bout d'un mois, aucune race n'avait sporulé.

*L'action des Levures sur les principaux sucres.* — Plusieurs méthodes permettent d'étudier, qualitativement, le pouvoir fermentatif des Levures sur les différents sucres. LINDNER et GUILLIERMOND [29, 1] préconisent celle des petites fermentations en chambre de VAN TIEGHEM. Après remplissage, jusqu'au bord, par une solution de sucre dans l'eau de Levures, la chambre stérilisée est fermée à l'aide d'une lamelle que l'on fixe sur l'anneau avec de la vaseline. Après fermeture, la chambre ne doit plus renfermer de bulle d'air. La fermentation se traduit par un dégagement de bulles de gaz carbonique qui s'assemblent sous la lamelle et finalement la soulèvent.

Récemment, STRUYCK [81] a mis au point un appareil à fermentation, conçu sur le principe suivant : deux tubes cylindriques de 1 centimètre de diamètre et 10 centimètre de hauteur, s'emboîtent l'un dans l'autre par une fermeture rodée. Dans sa partie inférieure, le tube supérieur se prolonge par une pointe effilée, d'environ 5 centimètres de longueur et traversée par un canal. Celle-ci plonge, jusqu'à mi-hauteur, dans le tube inférieur. La solution nutritive occupe totalement le volume du tube inférieur et le tube supérieur est fermé par un tampon de coton. Après pasteurisation, l'ensemencement de la solution se fait par la partie effilée du tube supérieur qui assure la communication entre les deux étages de l'appareil. Les bulles de gaz carbonique, produites par la fermentation,

s'accumulent, en couronne, dans le haut du tube inférieur, sous la fermeture rodée. Progressivement elles refoulent le liquide, qui, par le canal de communication, remonte dans le tube supérieur.

Aucune de ces deux méthodes ne donne complètement satisfaction. La première, insuffisamment aseptique, a été critiquée notamment par KLÖCKER [37]. Dans le cas d'une faible fermentation, la seconde fournit des résultats peu précis. De plus, avec certains sucres, comme le raffinose, elle est assez coûteuse, car la quantité de solution sucrée nécessaire au remplissage de chaque tube est assez importante.

Au cours de notre travail, nous avons fréquemment utilisé l'appareil de STRUYCK. Mais nous nous sommes également servi des chambres de VAN TIEGHEM, notamment pour l'étude de la fermentation du raffinose et de celle du galactose. La méthode des petites fermentations en chambre de VAN TIEGHEM donne les meilleurs résultats, à la condition de prendre les précautions d'asepsie nécessaires.

En plus du sucre, la solution doit contenir tous les éléments biochimiques indispensables à la vie des cellules.

Entre un milieu synthétique et l'eau de Levures, que faut-il choisir de préférence ? Les expériences de SCHOEN [75, a, b] sur la formation de l'acide pyruvique au cours de la fermentation, ont été faites avec le milieu synthétique suivant :

|                                                                            |   |                       |
|----------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------|
| Eau.....                                                                   | = | 1.000 cm <sup>3</sup> |
| Nitrate N H <sup>4</sup> .....                                             | = | 2 gr.                 |
| SO <sup>4</sup> Mg.....                                                    | = | 0,5 gr.               |
| Phosphate monopotassique..                                                 | = | 0,4 gr.               |
| Phosphate de N H <sup>4</sup> .....                                        | = | 0,4 gr.               |
| Traces de SO <sup>4</sup> Zn, SO <sup>4</sup> Fe et silicate de potassium. |   |                       |

Mais pour qu'une Levure se développe en milieu synthétique, il faut ajouter une substance de croissance appropriée ouensemencer une grande quantité de cellules. L'eau de Levures a l'avantage d'apporter, avec elle, tous les éléments nécessaires à la vie des cellules. On la prépare en faisant bouillir 100 gr. de Levures de boulangerie, dans un litre d'eau, pendant 10 minutes. La clarification est obtenue par collage au blanc d'œuf.

Depuis les travaux de ERRERA [23], on sait que les cellules de Levures renferment du glycogène et les recherches de GUILLIERMOND [29, d] ont montré que ce polyholoside était surtout abon-

dant dans les cellules âgées de 1 à 2 jours. Il apparaît d'abord dans le cytoplasme et se localise dans des sortes de vacuoles distinctes des vacuoles à corpuscules métachromatiques. Dans les cellules âgées, il disparaît peu à peu. Les ascospores en renferment des quantités importantes. L'eau de Levures doit donc en contenir une faible proportion qui peut être une cause d'erreur dans l'étude du pouvoir fermentatif des Levures sur les principaux sucres. Celle que nous avons utilisée a toujours été contrôlée par une hydrolyse à l'acide chlorhydrique, suivie d'un essai à la liqueur de Fehling. Tous les essais ont été négatifs.

La stérilisation des sucres est assez délicate. Nous avons préparé des solutions sucrées à la concentration de 15 %. Le pH de l'eau utilisée était voisin de la neutralité. Les solutions ont été stérilisées par une pasteurisation de 15 minutes, à 100°. Dans ces conditions, les sucres étudiés ne subissent pas de modifications. Le saccharose serait le plus fragile (1). Mais les essais à la liqueur de Fehling ont montré qu'il n'était pas dédoublé. L'eau de Levures étant stérilisée séparément, nous avons ajouté la solution sucrée au moment des essais, dans la proportion de 1 centimètre cube de solution pour 7 centimètres cubes d'eau de Levures. Après mélange, le milieu renfermait environ 2 % de sucre. Les chambres de VAN TIEGHEM et les lamelles étaient stérilisées en boîte de Petri, à l'autoclave, à 110°. Toutes les fermentations ont été faites sous boîte de Petri. En opérant de cette manière, les chances d'infection étaient très réduites et pratiquement nulles.

*Détermination du degré alcoolique des vins obtenus avec les différentes races de levures.* — Le degré alcoolique des différents vins obtenus a été mesuré à l'ébulliscope MALLIGAND, appareil construit sur le principe suivant. Pour une pression atmosphérique constante, la température d'ébullition d'un mélange d'alcool et d'eau est d'autant plus basse que la proportion d'alcool est plus forte. En partant de mélanges renfermant des quantités d'alcool connues et en repérant au thermomètre la température d'ébullition de chacun d'eux il sera possible d'établir une échelle graduée,

(1) Ces renseignements nous ont été communiqués aimablement par M. l'Abbé BELVAL, professeur à l'Institut Catholique de Paris.

qui, par la suite, pourra servir à déterminer la richesse alcoolique d'un mélange d'alcool et d'eau. Les ébulliscope MALLIGAND ou SALLERON sont gradués en dixièmes de degrés, en tenant compte de l'influence de l'extrait sec du vin, qui relève légèrement la température d'ébullition du mélange. Ces appareils sont couramment utilisés dans le commerce des vins. Ils permettent de mesurer le degré alcoolique avec une approximation de 1 à 2 dixième de degré, dans le cas des vins secs. L'approximation est moins bonne lorsque le vin renferme des sucres résiduels et l'erreur est d'autant plus grande que la proportion de sucres est plus élevée. La recherche d'alcool exige deux distillations. La première avec de l'eau pure qui indique la température d'ébullition de l'eau à la pression atmosphérique du moment, la seconde avec le vin qui indique la température d'ébullition du vin par rapport à celle de l'eau, dans les mêmes conditions de pression atmosphérique. La différence mesurée à l'échelle graduée renseigne sur le degré cherché.

Le degré vrai d'alcool ne peut être obtenu que par déplacement d'alcool par distillation, suivie d'une pesée à l'alcoomètre.

La méthode chimique de MARTIN et BODIN [75, c], basée sur l'oxydation de l'alcool par le bichromate de potassium fournit des résultats encore plus précis que la précédente.

Mais le triage physiologique des races était le seul but visé au cours de ces recherches. La connaissance du degré vrai de l'alcool produit ne semblait pas indispensable et les résultats approximatifs fournis par l'ébulliscope nous ont paru suffisants.

*Les Colonies géantes.* — Quelques Levures, comme le *Zygosaccharomyces marxianus* étudié récemment par Mlle CORDROCK [15], forment, sur moût gélosé, des colonies géantes très caractéristiques. Mais, sur ce milieu, les colonies et les cultures en stries des races isolées du vin présentent sensiblement toutes le même aspect. Humides, blanches, brillantes, elles deviennent jaunâtres et granuleuses en vieillissant. Quelques-unes sont vermiculées ou s'ornent de stries radiales. Mais ces caractères, trop peu spécifiques, manquent d'intérêt. Pour ces raisons, nous nous sommes borné à décrire les cultures en stries, sur moût gélosé à 1,8 %, après 40 jours de développement.

Par contre, les colonies géantes obtenues sur moût gélatiné fournissent des indications très précieuses pour la distinction de races aussi ressemblantes que celles que nous avons étudiées. ORSOS [61] a montré que la forme de la colonie variait avec la résistance élastique du milieu de culture. Une même espèce se développant sur deux milieux renfermant des proportions de gélatine assez différentes, par exemple 10% pour l'un et 12% pour l'autre, forment deux cultures sensiblement distinctes. Nous avons pu constater, à diverses reprises, que la colonie est toujours la même lorsqu'elle se développe sur des milieux identiques, à température constante, au voisinage de 18°. Nous avons utilisé des moûts gélatinés dont la concentration en gélatine était rigoureusement de 12%. Enfin, malgré le grand nombre de races étudiées, tout le moût gélatiné nécessaire a pu être préparé en deux fois seulement. Nous avons pris la précaution de repiquer sur le second milieu quelques races témoins, dont les colonies avaient déjà été photographiées sur le premier milieu. Dans les deux cas, nous avons obtenu des colonies parfaitement identiques. Nous avons ensemencé à l'aide du fil de platine, en évitant de blesser la surface du milieu solide. Nous avons utilisé des flacons de Roux plats, rectangulaires, à parois très transparentes, au travers desquelles les cultures pouvaient être photographiées. Les remarquables photographies reproduites à la fin de notre travail, ont été obtenues, sur des cultures âgées d'un mois, par M. JEANTET chef du service photographique à l'Institut Pasteur.

*Techniques cytologiques.* — Les techniques utilisées aujourd'hui dans les recherches cytologiques sur les Levures ont été mises au point par GUILLIERMOND, dès 1902. Elles sont exposées, en détail, dans la thèse de cet auteur. Nous les avons suivies fidèlement [29, d].

Pour obtenir de bonnes fixations, il est indispensable de s'adresser à des cellules jeunes, ayant un cytoplasme dense et peu vacuolisé. Les cellules âgées de plus de 24 heures renferment du glycogène en abondance et des corpuscules métachromatiques, qui, après coloration, peuvent être confondus avec le noyau et conduire à de fausses interprétations. De plus, à ce stade, le cytoplasme présente de grosses vacuoles, qui compriment le noyau, latéralement, ou dans l'un des pôles de la cellule.

Comme fixateur, nous avons surtout utilisé le liquide de BOVIN, de formule suivante :

|                     |                      |
|---------------------|----------------------|
| Acide picrique..... | = 30 cm <sup>3</sup> |
| Formol neutre.....  | = 10 cm <sup>3</sup> |
| Acide acétique..... | = 2 cm <sup>3</sup>  |

D'excellents fixateurs, comme le FLEMMING ou le HELLY (1), donnent des résultats nettement inférieurs dans la cytologie des Levures.

La fixation de la culture doit nécessairement précéder son étalement sur lame. Dans ces conditions, les cellules conservent leur forme et leur structure normales. La fixation de frottis conduit à de mauvaises préparations dans lesquelles les cellules apparaissent altérées et contractées.

En général, nous procédions de la manière suivante. Plusieurs verres de montre, contenant du moût de bière liquide et stérilisé, étaientensemencés à partir d'une culture jeune et placés à la température du laboratoire, pendant 12 heures. Au bout de ce temps, les cellules en se développant avaient formé des dépôts rassemblés au fond des verres. Après rejet du liquide surnageant, les dépôts étaient versés dans une petite boîte de Petri, contenant environ 40 centimètres cubes de fixateur. Après 3 heures de fixation, les cellules étaient lavées avec précaution, dans l'alcool à 70°, et déposées sur des lames légèrement albuminées. Un second lavage sur lames, par l'alcool à 70°, éliminait les restes d'acide picrique. Enfin, après 12 heures de mordantage, dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 3%, la coloration était obtenue par un séjour de 24 heures dans une solution d'hématoxyline ferrique. La fixation de cultures sur couches minces de gélose ou de moût gélifié nous a également donné, dans certains cas, des résultats intéressants. Nous l'avons utilisée, avantageusement, pour l'observation du fuseau achromatique et du centrosome.

*La coloration par la méthode de Feulgen.* — Le principe de la réaction de FEULGEN est bien connu. Une solution normale d'acide chlorhydrique agissant pendant 10 à 15 minutes, au bain-marie,

(1) On trouvera la formule de ces fixateurs dans le « Précis de Microscopie » de M. LANGERON, Masson, édit. Paris 1934.

transforme, par hydrolyse, l'acide thymonucléique du noyau. L'acide thyminique obtenu reste localisé là où se trouvait l'acide thymonucléique. Il possède une fonction aldéhyde libre grâce au ribodésosé et recolore la fuschine décolorée par l'anhydride sulfureux (Réactif de Schiff). Sur les coupes ou frottis collés sur lame, après hydrolyse convenable et séjour de quelques heures dans le réactif de Schiff, toutes les parties nucléaires contenant de l'acide thymonucléique apparaissent colorées en violet.

L'étude cytologique du noyau à l'aide de la réaction de FEULGEN restreint malheureusement le choix des fixateurs qui, en principe, ne doivent pas renfermer de substances oxydantes, comme l'acide picrique ou l'acide chromique. Les préparations fixées à l'alcool, ou au liquide de HELLY, donnent une réaction positive. Les noyaux apparaissent plus petits, car la chromatine seule se colore. D'autre part, l'hydrolyse altère sensiblement le cytoplasme des cellules et le fuseau achromatique des noyaux en division est peu visible. Nos résultats, comparables à ceux obtenus par ROCHLIN [68], étaient insuffisants pour interpréter les figures de mitoses.

---

## Levures isolées des vins blancs de Quincy (Cher).

### *Saccharomyces Quincy n° 1 (1)*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement et ne forme *jamais de voile* ou anneau, en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°8 d'alcool. Les cellules se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie d'abord humide et brillante devient jaunâtre en vieillissant. Après trois jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $15 \times 5,25 \mu$  et  $12 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Les cellules sporulent, facilement, au bout de 4 jours, sur Gorodkowa à 25°. Les asques, nombreux, renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant assez régulièrement de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte de moût gélosé, les ascospores germent, rapidement, et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine dans les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, à contour légèrement découpé et présentant deux ou trois sillons concentri-

(1) Nous utilisons cette expression pour désigner les différents *Saccharomyces* isolés des vins de tel ou tel pays — de ceux de QUINCY en l'occurrence.

ques dans la zone externe. Le centre est jaunâtre et granuleux (voir pl. 1, A, photo 1).

8 *Action sur les principaux sucres :*

|                               |                       |
|-------------------------------|-----------------------|
| Glucose : +                   | Saccharose : +        |
| Fructose : +                  | Maltose : +           |
| Mannose : +                   | Lactose : —           |
| Galactose : + après 48 heures | Raffinose : + faible. |

## *Saccharomyces Quincy n° 2.*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et ne forme *jamais de voile* ou anneau en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin pouvant titrer jusqu'à 14°. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Au bout de trois jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $15 \times 4,5 \mu$  et  $10,5 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Les cellules sporulent facilement, sur Gorodkowa au bout de 4 jours, à 25°. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores. Ceux à 2 ascospores sont très abondants. Les ascospores sphériques mesurent de  $2,5$  à  $3,5 \mu$  de diamètre. Certaines atteignent  $4,5 \mu$ . On remarque parfois la présence d'une grosse ascospore et d'une petite dans le même asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte de moût gélosé, les ascospores germent lentement. Une faible proportion d'entre elles se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux. Mais les cas de *parthénogénèse* sont très fréquents. Les ascospores germant directement produisent, parfois, un tube de germination, à l'extrémité duquel la première cellule apparaît.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie

pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie à contour régulier, jaunâtre dans la région centrale, qui se dresse en forme de cône à pointe accusée. (Voir Pl. 1, A, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                    |            |             |
|-----------|--------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                | Lactose    | : —         |
| Galactose | : — après 5 jours. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces* Quincy n° 3.

*Végétation sur moût de bière.* — Ensemencée sur moût de bière, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme jamais de voile ou anneau en surface.



Fig. 1. — *Saccharomyces* Quincy N° 3. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°5. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance,

à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $7,5 \times 6 \mu$ ,  $9,75 \times 7,25 \mu$  et  $10,5 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *cerevisiae*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Cette Levure ne forme que quelques asques sur Gorodkowa, au bout de 4 jours, à



Fig. 2. — *Saccharomyces* Quincey N° 3. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

25°. Quelques jours plus tard, la sporulation est plus abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant en moyenne de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre. Quelques ascospores géantes peuvent atteindre  $5 \mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — Les ascospores germent, difficilement, en chambre de Van Tieghem, au bout de 2 à 3 jours, sur goutte pendante de moût gélosé. Elles se conjuguent deux à deux ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, peu étalée,

à contour régulier, d'un blanc jaunâtre et d'aspect écailleux. (Voir pl. 1, A, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |             |
|-----------|------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 5 jours | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces Quincy n° 4.*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout d'une huitaine de jours, la surface est recouverte de fines granulations, qui, au bout de 21 jours, se sont développées sous forme d'*îlots granuleux*. Avec le moût de raisins, le *S. Quincy* n° 4 produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°. Les cellules nouvelles formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et brillante et devient jaunâtre en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $15 \times 5,25 \mu$  et  $12 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, cette race *sporule abondamment*. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, assez régulièrement,  $3,25 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — Les cultures en stries ne liquéfient pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné*. — Colonie plate, à contour dentelé, de couleur blanche, présentant quelques sillons radiaux et de nombreuses stries concentriques peu accusées. (Voir Pl. 1, A, photo 4).

*Action sur les principaux sucres.*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces Quincy n° 5.*

*Végétation sur moût de bière liquide*. — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile* ou d'anneau, en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 15°. Les cellules nouvelles, formées au cours de la fermentation, se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié*. — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$   $8 \times 5 \mu$  et  $7,5 \times 6 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores*. — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation ne se produit qu'au bout de 6 à 7 jours. Les asques renferment de 2 à 3 ascospores sphériques, mesurant, assez régulièrement,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels*. — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, cette Levure se comporte sensiblement comme le *S. Quincy n° 2*. Les ascospores germent assez difficilement, certaines d'entre elles se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux. Mais les cas de *parthénogénèse* sont très fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine*. — La culture en stries ne liquéfie

pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie à contour régulier, de couleur jaunâtre dans la région centrale, dressée en forme de cône (Voir Pl. 1, A, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                                   |            |             |
|-----------|-----------------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                               | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                               | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                               | Lactose    | : —         |
| Galactose | : négative au bout de<br>5 jours. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces Quincy n° 6.*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt. Quelques granulations apparaissent, en surface, au bout d'une quinzaine de jours. Mais elles ne forment *jamais d'îlots ou voile ou anneau*. Avec le moût de raisins, le *S. Quincy n° 6* produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 14°2. Une fine couche de cellules, formées au cours de la fermentation, se dépose sur les parois latérales de l'Erlenmeyer, mais la grosse partie se rassemble au fond du flacon.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie humide, d'abord blanche et brillante, devient jaunâtre en vieillissant. Le bourgeonnement présente un caractère assez particulier. Les cellules-filles ne restent pas toujours accolées aux initiales, comme dans le mode de bourgeonnement habituel. Deux cellules successives sont parfois réunies par un canal de communication étroit et assez long surtout visible sur les préparations cytologiques. Après 3 jours de croissance, à 25°, les types les plus courants de cellules mesurent :  $9 \times 6 \mu$  et  $9,75 \times 6 \mu$ .

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa à 25°, la sporulation est abondante *au bout de 4 jours*. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent très rapidement et se conjuguent deux à deux ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui se conjuguent bientôt deux à deux.

Cytologiquement nous avons constaté que la caryogamie ne se réalise pas toujours dans les zygosporos. Les deux noyaux forment un dicaryon s'étendant parfois à plusieurs cellules diploïdes. (Voir chapitre de la sexualité fig. 26 et pl. 7, photos 1 et 2).

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, à contour légèrement découpé, devenant jaunâtre en vieillissant, assez analogue à celle du *S. Quincy* n° 1.

*Action sur les principaux sucres :*

|                                |  |                       |
|--------------------------------|--|-----------------------|
| Glucose. : +                   |  | Saccharose : +        |
| Fructose : +                   |  | Maltose : +           |
| Mannose : +                    |  | Lactose : —           |
| Galactose : + au bout de 48 h. |  | Raffinose : + faible. |

**Levures isolées**  
**des vins blancs de Pouilly-ordinaire (Nièvre).**

**Saccharomyces Pouilly-ordinaire n° 1**

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°25 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $13,5 \times 6 \mu$  et  $13,5 \times 12 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 6 jours de culture, quelques asques se sont formés. Ils renferment généralement 2 ascospores sphériques mesurant en moyenne  $3 \mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et peuvent se conjuguer, deux à deux, ou donner naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux. Les cas de *parthénogénèse* sont très nombreux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les 3 premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, à contour régulier, qui se dresse en forme de cône. (Voir Pl. II, A, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |                             |
|-----------|----------------------|------------|-----------------------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + mais ne commen-         |
| Fructose  | : +                  |            | ce qu'au bout de 40 heures. |
| Mannose   | : +                  | Maltose    | : +                         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Lactose    | : +                         |
|           |                      | Raffinose  | : + faible.                 |

*Saccharomyces Pouilly-ordinaire n° 2*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt. Un mince anneau adhérent sur les parois du tube apparaît en surface, au bout d'un mois. Le *S. Pouilly-ordinaire* n° 2 produit, avec le moût de raisins, un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14° d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie humide et de couleur blanchâtre devient vermiculée au bout d'un mois. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $16 \times 4 \mu$  et  $10,5 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante au bout de 6 jours. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant en moyenne  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent, rapidement, et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui se fusionnent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante.* — Colonie blanchâtre, étalée, à contour assez régulier. La surface est vermiculée dans la zone centrale (voir Pl. II, A, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |                  |
|-----------|----------------------|------------|------------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + très active. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : + très active. |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —              |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible.      |

*Saccharomyces Pouilly-ordinaire n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt. Au bout de 21 jours, elle forme *un anneau* adhérent sur les parois du tube de culture.



Fig. 3. — *Saccharomyces* Pouilly-ordinaire N° 3. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

Avec le moût de raisins, elle produit un vin très clair pouvant titrer jusqu'à 14°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation s'*agglomèrent fortement* en se déposant au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est blanche, sèche et consistante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $7,5 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est *très faible*. Après chauffage de la culture sporulée, pendant 12 heures, à 55°, on obtient quelques asques à 2 ou 3 ascospores sphériques, mesurant en moyenne de 2 à 3  $\mu$  de diamètre.

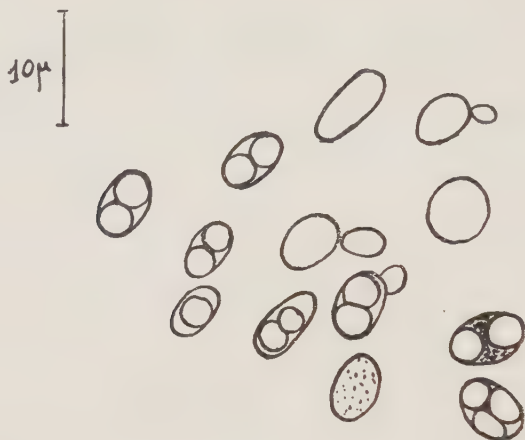


Fig. 4. — *Saccharomyces* Pouilly-ordinaire N° 3. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte de moût gélifié, les ascospores germent mal. Un ensemencement massif sur tube de moût gélifié suivi d'examen entre lame et lamelle permet de découvrir des zygospores dérivant de copulations d'ascospores ou de cellules haploïdes, deux à deux. La sexualité s'accomplit donc suivant le mode habituel.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie sèche, consistante, à contour assez régulier. La surface est légèrement bombée, granuleuse et dépourvue d'ornements. (Voir Pl. II, A, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|                                |  |                       |
|--------------------------------|--|-----------------------|
| Glucose : +                    |  | Saccharose : +        |
| Fructose : +                   |  | Maltose : +           |
| Mannose : +                    |  | Lactose : —           |
| Galactose : + au bout de 48 h. |  | Raffinose : + faible. |

## *Saccharomyces* Pouilly-ordinaire n° 4

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et, après 30 jours, forme un *mince anneau* à la surface, adhérent sur le verre du tube de culture.

Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 13°25 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent sur les parois latérales et au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9,75 \times 6 \mu$ ,  $9,75 \times 5,25 \mu$ ,  $18 \times 4,5 \mu$  et  $9,5 \times 7,5 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses. L'ensemble est peu homogène. Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de *six jours*, la sporulation est assez abondante. Les ascques renferment de 1 à 3 ascospores, de forme souvent ovale ou réniforme, et mesurant, en moyenne,  $3,30 \mu$  de diamètre. Mais quelques-unes d'entre elles sont nettement plus grosses ( $4,75 \mu$ ).

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélosé.* — Colonie blanche, légèrement bombée, à contour régulier, dont la surface est légèrement vermiculée. (Voir Pl. II, A, photo 4).

### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Pouilly-ordinaire n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8,5 \times 5 \mu$ ,  $10 \times 5 \mu$  et  $8,5 \times 7 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoïdeus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, ou sur bloc de plâtre, cette Levure *sporule très difficilement*. Au bout d'un mois, on rencontre quelques asques à 2 ou 3 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. Quelques zygosporos tardivement apparues se transforment directement en asques par raccourcissement du cycle de développement.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui se fusionnent, bientôt, deux à deux. Mais, de plus, cette race de *Saccharomyces* présente de curieuses anomalies sexuelles, examinées en détail au chapitre de la sexualité.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, à contour régulier, dressée en forme de cône (Voir Pl. II, A, photo 5).

### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                |  |            |            |
|-----------|----------------|--|------------|------------|
| Glucose   | : +            |  | Saccharose | : +        |
| Fructose  | : +            |  | Maltose    | : +        |
| Mannose   | : +            |  | Lactose    | : —        |
| Galactose | : + difficile. |  | Raffinose  | : + faible |

## Levures isolées des vins de Pouilly-fumé (Nièvre)

### *Saccharomyces* Pouilly-fumé n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme, au bout de 14 jours, un anneau qui s'élargit progressivement. Au bout d'un mois, il envahit presque complè-



Fig. 5. — *Saccharomyces* Pouilly-Fumé N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

tement la surface. Avec le moût de raisins, le *S. Pouilly-fumé* n° 1 produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 12°9. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie humide, d'un blanc mat, devient vermiculée en vieillissant.

Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $12 \times 4,5 \mu$ ,  $18 \times 4,5 \mu$  et  $10,5 \times 8 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne, de 3 à  $3,3 \mu$  de diamètre. Quelques-unes sont plus petites ( $2,75 \mu$ ).



Fig. 6. — *Saccharomyces* Pouilly-Fumé N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent, rapidement, et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent bientôt deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, largement étalée, à contour découpé, à surface plissée radialement et ornée de stries concentriques, très marquées dans la partie centrale. (Voir Pl. 1, B, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |                   |
|-----------|----------------------|------------|-------------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active.       |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +               |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : +               |
| Galactose | : + au bout de 48 h. | Raffinose  | : + assez active. |

*Saccharomyces Pouilly-fumé n° 2*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et, au bout de 11 jours, forme *un voile*, devenant très épais au bout d'un mois. Avec le moût de raisins, le *Saccharomyces* Pouilly-Fumé N° 2, produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°2 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et d'un blanc mat. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $10,5 \times 4,5 \mu$ ,  $19,5 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Au bout de 4 jours de culture sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne, de 3 à  $3,30 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent rapidement. Une certaine proportion d'entre elles se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent bientôt, deux à deux. Mais les cas de *parthénogénèse* sont fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — La colonie est assez ressemblante à celle du *S. Pouilly-Fumé* n° 1 ; mais la zone centrale présente moins de stries concentriques (Voir Pl. I, B, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces Pouilly-fumé n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette race se développe, activement, en dépôt. Au bout de 11 jours, *un anneau* apparaît en surface ; il s'élargit progressivement, pour devenir *presque un voile* au bout de deux mois. Avec le moût de raisins, le *S. Pouilly-Fumé n° 3* produit un vin pouvant titrer jusqu'à 12°6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et d'un blanc mat. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $10,5 \times 4,5 \mu$  et  $19,5 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, cette race *sporule faiblement*, au bout de 7 jours. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant en moyenne  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui se fusionnent, bientôt, deux à deux. Il y a des cas de *parthénogénèse*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les deux premiers mois. Au bout de 7 mois la liquéfaction est complète.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — La colonie est assez ressemblante à celle du *S. Pouilly-Fumé n° 1*. (Voir Pl. I, B, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 48 h. | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces Pouilly-fumé n° 4*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme un *anneau mince*, en surface, au bout d'une douzaine de jours. Avec le moût de raisins, le *S. Pouilly-Fumé* n° 4 produit un vin clair pouvant atteindre jusqu'à 14°2 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se posent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et d'un blanc mat. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $10,5 \times 5 \mu$  et  $19 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent rapidement et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois. La liquéfaction est complète au bout de 7 mois.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, largement étalée, à contour régulièrement découpé, de couleur blanchâtre.

La zone centrale est granuleuse et la zone externe présente des stries concentriques assez nombreuses. (Voir Pl. I, B, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces Pouilly-fumé n° 5*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout de 12 jours, la surface est recouverte d'îlots assez larges. L'ensemble, en s'accroissant, s'est transformé, au bout d'un mois, en *anneau et îlots granuleux*. Avec le moût de raisins le *S. Pouilly-Fumé n° 5* produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 12°6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie d'abord humide et de couleur blanchâtre, devient vermiculée au bout d'un mois. Après 3 jours de culture sur moût gélifié, à 25°, le type le plus courant de cellules mesure : 10,5 × 5  $\mu$ . On remarque la présence de cellules plus longues, comme dans les quatre autres races de *Saccharomyces* isolées des vins de Pouilly-Fumé étudiées précédemment.

Le *S. Pouilly-Fumé n° 5* appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante ; les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne, 3,3  $\mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux. Mais les *cas de parthénogénèse* sont assez fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, blanchâtre, largement étalée, à contour très découpé. La surface est plissée radialement et présente de très nombreuses stries concentriques qui lui donnent un aspect vermiculé. (Voir Pl. 1, B, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |             |
|-----------|------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 3 jours | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces Pouilly-fumé n° 6*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 12°7 d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, d'un blanc mat. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $10,5 \times 5 \mu$  et  $19 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Le *S. Pouilly-Fumé n° 6* appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est assez abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie commence à

*liquéfier la gélatine* au bout de trois mois. La liquéfaction est complète au bout de six mois.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, peu étalée, à contour régulier. La surface est légèrement écailleuse et dépourvue d'ornements. (Voir Pl. I, B, photo 6).

*Action sur les principaux sucres.* —

|           |                        |            |             |
|-----------|------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 3 jours | Raffinose  | : + faible. |

Levures isolées des vins blancs de Sauvignon (Cher).

### *Saccharomyces* Sauvignon n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout d'une vingtaine de jours, la surface se recouvre

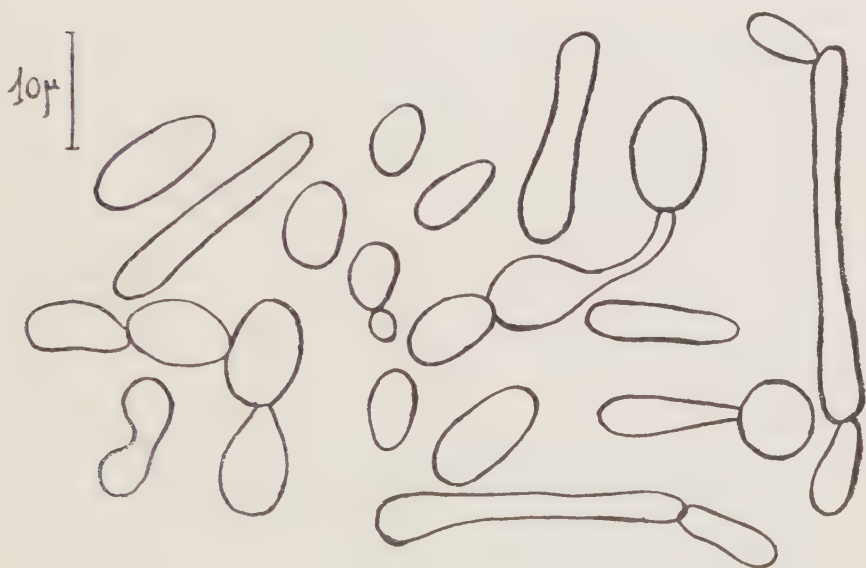


Fig. 7. — *Saccharomyces* Sauvignon N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

d'une *fine pellicule*, ainsi que d'un anneau, adhérent sur le verre du tube de culture. Avec le moût de raisins, le *S. Sauvignon* N° 1, produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 10°4 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie jeune est humide et de couleur jaunâtre. Plus âgée, elle présente une plaque centrale vermiculée et des bords duvetés. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $13 \times 4 \mu$ ,  $21 \times 3 \mu$ ,  $30 \times 3,75 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.



Fig. 8. — *Saccharomyces Sauvignon* N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkova.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkova à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment en général de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3,25 \mu$  de diamètre. Certaines cellules géantes, en forme de saucisses, contiennent parfois de 8 à 12 ascospores.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — Sur moût gélifié, la culture en strie ne produit aucune liquéfaction pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, présentant une pointe centrale. La surface semble recouverte d'une fine poussière farineuse. (Voir Pl. VI, B, photo 1).

*Action sur les principaux sucres.*

|            |                      |           |                         |
|------------|----------------------|-----------|-------------------------|
| Glucose    | : +                  | Maltose   | : + lente commence      |
| Fructose   | : +                  |           | au bout de 36 h.        |
| Mannose    | : +                  | Lactose   | : —                     |
| Galactose  | : + au bout de 36 h. | Raffinose | : + lente ne se déclare |
| Saccharose | : +                  |           | qu'au bout de           |
|            |                      |           | 48 heures.              |

## *Saccharomyces Sauvignon n° 2*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout d'une vingtaine de jours, elle forme, en surface, *un anneau et un voile mince*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 10°9 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent sur les parois latérales et au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — Colonie d'un blanc jaunâtre, humide et brillante, à contour duveteux. Après trois jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 3,75 \mu$ ,  $28 \times 3,75 \mu$  et  $9 \times 6,75 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques, formés aux dépens des cellules longues ou rondes, renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne, de 3 à  $3,25 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie

pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, à surface concave en forme d'assiette ayant également un aspect farineux. (Voir Pl. VI, B, photo 2).

*Action sur les principaux sucres.*

|           |                       |            |                                         |
|-----------|-----------------------|------------|-----------------------------------------|
| Glucose   | : +                   | Saccharose | : +                                     |
| Fructose  | : +                   | Maltose    | : + lente, commence<br>au bout de 40 h. |
| Mannose   | : +                   | Lactose    | : —                                     |
| Galactose | : au bout de 5 jours. | Raffinose  | : + lente, commence<br>au bout de 2 j.  |

### *Saccharomyces Sauvignon n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Elle forme *quelques granulations*, en surface, au bout d'une vingtaine de jours. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°7 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, brillante, d'un blanc jaunâtre, elle présente un contour régulier. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $9,75 \times 6 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkova, à 25°, les asques n'apparaissent *qu'au bout d'une vingtaine de jours*. Ils renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne de 3 à  $3,25 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, à surface lisse dans la zone extérieure et granuleuse dans la région centrale. (Voir Pl. VI, B, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                    |            |             |
|-----------|--------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                | Lactose    | : —         |
| Galactose | : au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces Sauvignon n° 4*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe assez lentement. Au bout d'une vingtaine de jours, en surface, elle forme *quelques îlots granuleux*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — Colonie humide, brillante, d'un blanc jaunâtre, à contour duveteux. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $13 \times 3,75 \mu$ ,  $30 \times 3,75 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment en général de 1 à 4 ascospores, mesurant, en moyenne, de  $3$  à  $3,25 \mu$  de diamètre. Quelques asques géants peuvent contenir jusqu'à 8 ascospores.

*Phénomènes sexuels.* — Les ascospores germent, très rapidement, en chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé

et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie commence à liquéfier la gélatine au bout de 80 jours.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie géante, blanchâtre, d'aspect farineux, à contour régulier et présentant de grosses granulations dans la région centrale. (Voir Pl. VI, B, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |                                                      |
|-----------|------------------------|------------|------------------------------------------------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +                                                  |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : + lente, commence<br>au bout de 36 h.              |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —                                                  |
| Galactose | : + au bout de 2 jours | Raffinose  | : + lente, n'apparaît<br>qu'au bout de<br>40 heures. |

---

Levures isolées des vins de Mont (Loir-et-Cher).

*Saccharomyces* Mont n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout de 30 jours, elle forme un *anneau*, en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°1 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.



Fig. 9. — *Saccharomyces* Mont N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélifié âgée de 3 jours.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, d'un blanc mat et légèrement vermiculée dans la partie centrale. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9,75 \times 5,25 \mu$ ,  $21 \times 4,5 \mu$  et  $10 \times 8 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — La race est *peu sporogène*, après enrichissement en ascospores par chauffage, à 55°, pendant 12 heures, on rencontre quelques asques à 2, 3, 4 ascospores sphériques, mesurant 3  $\mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En raison de la faible proportion d'asques, la sexualité ne peut s'observer que par un ensemencement massif, suivi d'examen répétés entre lame et lamelle. On découvre,



Fig. 10. — *Saccharomyces* Mont N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

de cette manière, des zygospores dérivant de copulations d'ascospores ou de cellules haploïdes, deux à deux. Le phénomène s'accomplit donc suivant le mode habituel.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie largement étalée, blanche, à contour découpé, plissée radialement et présentant de très nombreuses stries concentriques accusées. (Voir Pl. III, photo 1).

#### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Mont n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme, au bout de 20 jours, un *voile granuleux* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°2 d'alcool ; les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche, brillante et légèrement granuleuse dans la partie centrale. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $7,5 \times 5,25 \mu$ ,  $13 \times 4,5 \mu$  et  $7,5 \times 6,75 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoïdeus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Cette race est peu sporogène. Sur Gorodkowa, à 25°, au bout d'un mois, on rencontre quelques asques, renfermant 2 ascospores sphériques, qui mesurent  $3 \mu$  de diamètre. Souvent, elles n'occupent pas tout le volume de l'asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores se fusionnent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui se fusionnent deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie étalée, blanchâtre, à contour régulièrement découpé, légèrement plissée radialement et présentant des stries concentriques, régulièrement espacées. (Voir Pl. III, photo 2).

### *Action sur les principaux sucres.*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces* Mont n° 3

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout de 21 jours, elle forme, en surface, *un voile granuleux*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin pouvant titrer jusqu'à 13°6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante et présente quelques granulations dans la région centrale, au bout d'un mois. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8,25 \times 5,25 \mu$ ,  $15 \times 4,5 \mu$  et  $8,25 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoïdeus* à petites cellules.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 8 jours, la sporulation est assez abondante. Les asques renferment 2 ascospores sphériques, mesurant de 3 à 3,5  $\mu$  de diamètre. Souvent, elles n'occupent pas complètement tout le volume de l'asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores se conjuguent rarement deux à deux, mais donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux. Les cas de *parthénogénèse* sont fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, largement étalée, à contour découpé, plissée radialement, à surface granuleuse et présentant des stries concentriques peu accusées. (Voir Pl. III, photo 3).

#### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |                      |
|-----------|----------------------|------------|----------------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + au bout de 12 h. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +                  |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —                  |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible.          |

## *Saccharomyces* Mont n° 4

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Au bout de 21 jours, elle forme de  *fines granulations* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin trouble, pouvant titrer jusqu'à 13°9 d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide et d'un blanc jaunâtre. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que  $7,25 \times 5,25 \mu$ ,  $13 \times 4,5 \mu$  et  $7,5 \times 6,75 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoïdeus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, ou sur bloc de plâtre, à 25°, même après tentative d'enrichissement en ascospores par chauffage, la culture n'a jamais sporulé.

*Phénomènes sexuels.* — La race est *asporogène*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, présentant une pointe dans la partie centrale et quelques plis radiaux (Voir pl. III, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |  |            |     |
|-----------|----------------------|--|------------|-----|
| Glucose   | : +                  |  | Saccharose | : + |
| Fructose  | : +                  |  | Maltose    | : + |
| Mannose   | : +                  |  | Lactose    | : — |
| Galactose | : + au bout de 36 h. |  | Raffinose  | : + |

## *Saccharomyces* Mont n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Elle forme des *îlots en surface*, au bout d'une vingtaine de jours. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant

titrer jusqu'à 13°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et d'un blanc jaunâtre. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que  $9 \times 5,25 \mu$  et  $16 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Le *S. Mont* N° 5 *sporule faiblement*. Sur Gorodkowa, à 25°, au bout d'une *vingtaine de jours*, on rencontre quelques asques renfermant 2 ascospores sphériques de 3 à 3,5  $\mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, dont la partie centrale est granuleuse. (Voir pl. III, Photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |                      |
|-----------|------------------------|------------|----------------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : + au bout de 12 h. |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +                  |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —                  |
| Galactose | : + au bout de 2 jours | Raffinose  | : + faible.          |

## *Saccharomyces Mont n° 6*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme *des granulations*, en surface, au bout d'une vingtaine de jours. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°1 d'alcool; les cellules formées au cours

de la fermentation se développent exclusivement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanchâtre et granuleuse. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $13,5 \times 4,5 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne, de 2,5 à 3  $\mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van-Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent rapidement et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, à surface lisse, présentant une pointe en forme de cône dans la partie centrale. (Voir Pl. III, photo 6).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |            |
|-----------|------------------------|------------|------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +        |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +        |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —        |
| Galactose | : + au bout de 2 jours | Raffinose  | : + faible |

## *Saccharomyces* Mont n° 7

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe très activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin d'abord trouble mais se clarifiant rapidement, et pouvant titrer jusqu'à 14° d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et d'un blanc mat. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8,25 \times 5,25 \mu$ ,  $13,5 \times 4,5 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkova, à 25°, la sporulation est assez abondante au bout de 8 jours. Les asques renferment de 2 à 3 ascospores sphériques mesurant de 2,5 à 3  $\mu$  de diamètre et qui, souvent, n'occupent pas entièrement le volume de l'asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendant de moût gélosé, les ascospores germent péniblement. Mais par des ensemencements massifs de la culture sporulée, suivis d'observations entre lame et lamelle, on observe les phénomènes sexuels habituels du genre *Saccharomyces*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, largement étalée, à contour légèrement découpé, à surface un peu plissée radialement et présentant de nombreuses stries concentriques. (Voir Pl. III, photo 7).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Mont n° 8

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme, au bout de 20 jours, de *larges îlots*, envahissant presque toute la surface. Avec le moût de raisins, elle produit un

vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°8 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — La colonie est humide, brillante et blanchâtre ; elle jaunit en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $18 \times 4 \mu$  et  $9 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

L'ensemble est peu homogène. Néanmoins cette race peut être rangée dans le type *pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, on obtient une *bonne* sporulation, au bout de 8 jours. Les asques renferment de 2 à 3 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne, de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, présentant une pointe dans la région centrale et un sillon concentrique équidistant du centre et du bord. (Voir Pl. III, photo 8).

*Action sur les principaux sucres.*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | ! +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : +         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## Saccharomyces Mont n° 9

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt.

Dès le septième jour, elle forme *un voile* qui envahit toute la surface au bout de trois semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°6 d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et blanchâtre. Elle jaunit en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 4,5 \mu$ ,  $15 \times 4,5 \mu$  et  $6,75 \times 8,25 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout d'une vingtaine de jours, nous avons obtenu *quelques* asques à 2, 3, 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. Deux ans plus tard, cette Levure est devenue complètement asporogène.

*Phénomènes sexuels.* — Au début de nos recherches, le S. Mont n° 9, présentait les phénomènes sexuels habituels du genre *Saccharomyces*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie, ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulièrement découpé, présentant une pointe centrale et des stries concentriques peu apparentes sur toute la surface. (Voir Pl. III, photo 9).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

---

**Levures isolées**  
**d'un vin rosé de Gris-Meunier (Loiret).**

**Saccharomyces Gris-Meunier n° 1**

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme *des îlots en surface*, bien caractérisés au bout de 3 semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14° d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent légèrement sur les parois latérales et surtout au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8,25 \times 5,25 \mu$ ,  $13,5 \times 4,25 \mu$  et  $8,25 \times 6,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkova, à 25°, au bout de 17 jours, on rencontre *quelques asques*, renfermant généralement deux ascospores sphériques, qui mesurent de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre. Souvent, elles n'occupent pas complètement le volume de la cellule.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine dans les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — La colonie blanchâtre, à contour légèrement découpé, présente des stries concentriques peu accusées et un sillon équidistant du bord et du centre. (Voir Pl. II, B, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose.   | : —         |
| Galactose | : + au bout de 40 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Gris-Meunier n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin d'abord trouble mais se clarifiant rapidement et pouvant titrer jusqu'à 13°3 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient légèrement granuleuse, dans la région centrale, en vieillissant.

Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $9,75 \times 6 \mu$ ,  $15 \times 4,5 \mu$  et  $8,25 \times 6,75 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 7 jours, on obtient quelques asques, renfermant généralement 2 ascospores sphériques, qui mesurent de 3 à  $3,5 \mu$ . Parfois, elles n'occupent pas complètement le volume de l'asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules qui se fusionnent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie

pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Petite colonie blanche, à contour régulier, dressée en forme de cône. (Voir Pl. II, B, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|                                |  |                                                    |
|--------------------------------|--|----------------------------------------------------|
| Glucose : +                    |  | Saccharose : + active commence<br>au bout de 16 h. |
| Fructose : +                   |  | Maltose : +                                        |
| Mannose : +                    |  | Lactose : —                                        |
| Galactose : + au bout de 48 h. |  | Raffinose : + faible.                              |
|                                |  |                                                    |

### *Saccharomyces* Gris-Meunier n° 3

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme, en surface, des îlots bien caractérisés au bout de

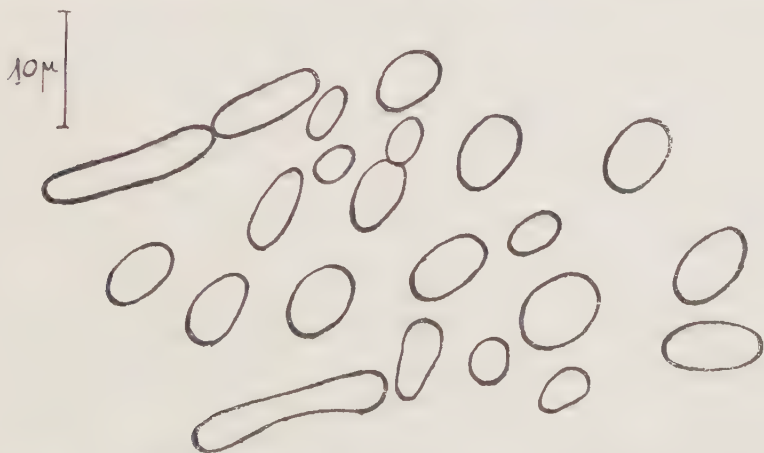


Fig. 11. — *Saccharomyces* Gris-Meunier N° 3. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélifié âgée de 3 jours.

3 semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°1. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche et brillante et devient granuleuse dans la

partie centrale en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8 \times 6 \mu$ ,  $8,25 \times 7,5 \mu$  et  $14,5 \times 5,25 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *cerevisiae*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 20 jours, on obtient quelques asques renfermant de 1 à 4 ascospores sphériques (généralement 2), mesurant de 2,5 à 3,5  $\mu$ .

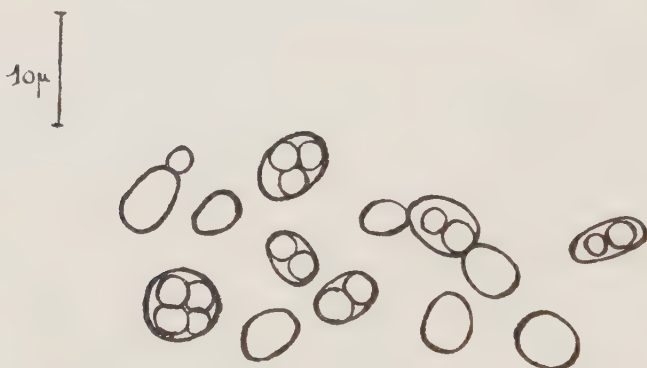


Fig. 12. — *Saccharomyces* Gris-Meunier N° 3. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, à contour régulier, légèrement granuleuse dans la région centrale, et présentant un sillon concentrique très marqué, équidistant du centre et du bord. (Voir Pl. II, B, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |             |
|-----------|------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 2 jours | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces* Gris-Meunier n° 4

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Elle forme de *larges îlots* au bout de trois semaines. Finalement, un voile complet recouvre la surface au bout d'un mois. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°8 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $8,25 \times 4,5 \mu$ ,  $9 \times 4,5 \mu$ ,  $15 \times 4 \mu$  et  $8 \times 6,5 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, on obtient une *sporulation abondante*, au bout de 4 jours. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en général, de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, en goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent et se conjuguent presque toujours deux à deux. Dans quelques cas, elles forment des cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulièrement découpé, présentant quelques stries concen-

triques peu marquées et un sillon concentrique équidistant du centre et du bord. (Voir Pl. II, B, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |                  |
|-----------|------------------------|------------|------------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : + très active. |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +              |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —              |
| Galactose | : + au bout de 2 jours | Raffinose  | : + faible.      |

## *Saccharomyces* Gris-Meunier n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 10°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et légèrement sur les parois de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche et brillante et devient granuleuse, dans la région centrale, en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $9,75 \times 7,5 \mu$ ,  $16,5 \times 4,5 \mu$  et  $10,5 \times 7,5 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores rondes, mesurant, en général, de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent rapidement et, le plus souvent, se conjuguent deux à deux. Toutefois, dans certains cas, elles bourgeonnent directement et les cellules haploïdes ainsi formées couplent deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie géante blanchâtre, à contour découpé, plissée radialement et granuleuse dans la région centrale. (Voir Pl. II, B, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 40 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Gris-Meunier n° 6

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme *quelques granulations*, en surface, au bout de 21 jours. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°4 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et légèrement sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide et blanchâtre. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9,75 \times 6 \mu$  et  $12 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 8 jours, on obtient *quelques asques* renfermant de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3,25 \mu$  de diamètre. Certaines sont plus petites ( $2,75 \mu$ ) et d'autres beaucoup plus grosses ( $4,75 \mu$ ).

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent, très lentement, et peuvent se conjuguer, deux à deux, ou former de petites cellules haploïdes, qui copulent deux à deux ; mais les cas de *parthénogénèse* sont assez fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie

pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour légèrement découpé, dont la surface présente des stries concentriques très marquées dans la zone centrale. (Voir Pl. II, B, photo 6).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                        |            |             |
|-----------|------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                    | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                    | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                    | Lactose    | : —         |
| Galactose | : au bout de 40 heures | Raffinose  | : + faible. |

---

Levures isolées  
des vins de Vouvray (Indre-et-Loire) en 1935.

Vouvray-Barre.

Vouvray-Bourg.

*Saccharomyces* Vouvray-Barre n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en

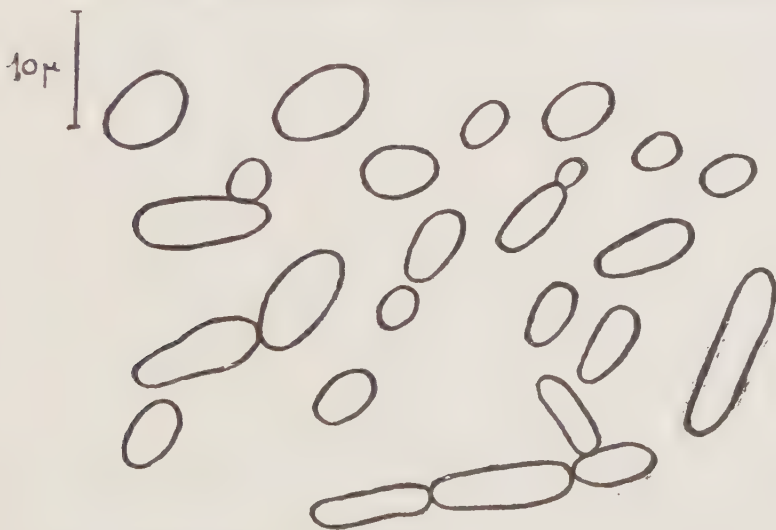


Fig. 13. — *Saccharomyces* Vouvray-Barre N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

dépôt, et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 14°7 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $13,5 \times 4,5 \mu$  et  $7,5 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Au moment de l'isolement, sur Gorodkowa, à 25°, nous avons obtenu une bonne sporulation au bout d'une vingtaine de jours. Les asques renferment

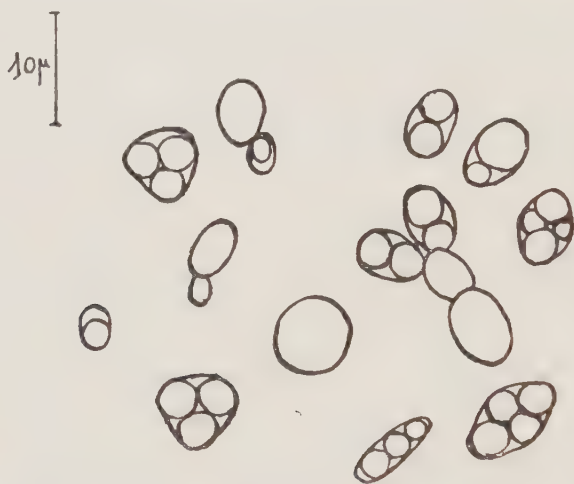


Fig. 14. — *Saccharomyces* Vouvray-Barre N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne, de 3 à  $3,25 \mu$  de diamètre. Il y a parfois dimorphisme d'ascospores dans le même asque : une ascospore de  $4 \mu$  accompagnant par exemple deux autres de  $3 \mu$ .

Actuellement, cette Levure perd progressivement sa propriété de sporuler.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent très lentement et peuvent se conjuguer deux à deux. Mais les cas de *parthénogénèse* sont très fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, à contour régulier, dressée en forme de cône. (Voir Pl. IV, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|             |                                      |              |                                               |
|-------------|--------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------|
| Glucose :   | +                                    | Saccharose : | +                                             |
| Fructose :  | +                                    | Maltose :    | +                                             |
| Mannose :   | +                                    | Lactose :    | —                                             |
| Galactose : | + lente, commence<br>au bout de 4 j. | Raffinose :  | + faible, commen-<br>ce au bout d'un<br>jour. |

## *Saccharomyces* Vouvray-Barre n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 14°8 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $8,25 \times 5 \mu$ ,  $13,5 \times 5 \mu$  et  $8,25 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkova, au bout de 4 jours, à 25°, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. Parfois, dans un même asque, une ascospore de  $4 \mu$  et une de  $2,5 \mu$  sont côte à côte.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules qui copulent bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, plate, à contour découpé, à bords plissés radialement, et dont la surface est légèrement granuleuse dans la région centrale. (Voir Pl. IV, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : — au bout de 5 j. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces Vouvray-Barre n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt, et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin d'abord trouble, qui se clarifie lentement et peut titrer jusqu'à 14°8 d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $8,25 \times 5 \mu$ ,  $13,25 \times 5 \mu$  et  $8,25 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Le *S. Vouvray-Barre* N° 3 appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 9 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment des ascospores sphériques au nombre de 1 à 4 par asque et mesurant, en moyenne, 3 de diamètre. Dans un même asque, les deux ascospores peuvent être d'inégale grosseur, comme pour les races précédentes.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent et se conjuguent

deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, dressée en forme de cône. (Voir Pl. IV, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 5 j. | Raffinose. | : + faible. |

## *Saccharomyces* Vouvray-Bourg n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt, et ne forme *jamais de voile* en surface.

Avec le moût de raisins, elle produit un vin très clair pouvant titrer jusqu'à 11°. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, brillante et jaunâtre. Après 3 jours de culture, à 25°, le type le plus courant de cellules mesure :  $9,75 \times 5,25 \mu$ .

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. On rencontre également des formes plus petites ( $2,5 \mu$ ) qui n'occupent pas complètement le volume de l'asque.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent très lentement et peuvent se fusionner deux à deux suivant le mode habituel. Mais les cas de *parthénogénèse* sont très fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie sur moût gélatiné ne produit aucune liquéfaction pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie jaunâtre, à contour régulier, dressée en forme de cône. (Voir Pl. IV, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                         |  |            |             |
|-----------|-------------------------|--|------------|-------------|
| Glucose   | : +                     |  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                     |  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                     |  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 3 j. 1/2 |  | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Vouvray-Bourg n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt, et forme *quelques granulations*, en surface, au bout d'une dizaine de jours. Avec le moût de raisins, elle produit *un vin trouble*, se clarifiant lentement et pouvant titrer jusqu'à 13° d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélósé.* — La colonie est humide, brillante et jaunâtre. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9,75 \times 5,25 \mu$ ,  $12 \times 4,5 \mu$  et  $8,25 \times 7,25 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 7 jours on obtient une bonne sporulation. Les ascques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant de 3 à  $3,25 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélósé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, jaunâtre, à contour légèrement découpé, présentant quelques stries concentriques peu marquées. (Voir Pl. IV, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                                      |            |             |
|-----------|--------------------------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + active, commence au bout d'un j. | Raffinose  | : + faible. |

---



## Levures isolées des vins de Vouvray 1936 (Indre-et-Loire).

### *Saccharomyces* Vouvray 1936 n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et ne forme *jamais de voile* en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, brillante, d'un blanc légèrement jaunâtre. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $8,25 \times 6 \mu$ ,  $18 \times 5,25 \mu$  et  $11,5 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race, peu homogène, appartient au type *ellipsoideus* à petites cellules.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est *assez abondante*. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et peuvent se conjuguer deux à deux, ou donner naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent deux à deux. Toutefois, les cas de *parthénogénèse* sont assez fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, légèrement jaunâtre, à contour régulier, dressée en forme de cône. (Voir Pl. IV, photo 6).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 5 j. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Vouvray 1936 n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme *un voile épais*, vermiculé, bien caractérisé au bout de 14 jours. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°25 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanchâtre, et vermiculée. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules telles que :  $9 \times 4,5 \mu$ ,  $16,5 \times 3,75 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, ou sur plâtre, à 25°, la sporulation est *très abondante*. Elle commence *au bout de deux jours*. Après 4 jours, 90% des cellules se sont transformées en asques. Ceux-ci renferment de 1 à 4 ascospores le plus souvent deux. Les ascospores sont sphériques et mesurent, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. Mais à côté d'ascospores de  $3 \mu$ , beaucoup d'autres mesurent  $4,5 \mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — En germant, quelques ascospores se conjuguent ou forment des cellules haploïdes, qui copulent deux à deux. Mais plus de 95% des germinations s'effectuent par *parthénogénèse*. (Voir au chapitre de la sexualité).

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, d'un blanc légèrement jaunâtre, à contour légèrement dentelé, présentant des stries concentriques assez espacées et très accusées. (Voir Pl. IV, photo 7).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |  |            |             |
|-----------|---------------------|--|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 |  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 |  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 |  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 2 j. |  | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces Vouvray 1936 n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme un *mince anneau*, bien caractérisé au bout de 3 semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin très clair, pouvant titrer jusqu'à 14°6 d'alcool. Les cellules, formées au cours de la fermentation, possèdent la propriété de s'agglomérer fortement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est sèche, d'un blanc brillant, légèrement teinté de jaune. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $14,5 \times 4,5 \mu$  et  $9 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est assez abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant de 2,5 à  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, d'un blanc jaunâtre, à contour assez régulier, présentant une pointe dans la région centrale. (Voir Pl. IV, photo 8).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 60 h. | Raffinose  | : + faible. |

---

## Levures isolées d'un vin rouge de Bourgueil (Indre-et-Loire)

### *Saccharomyces* Bourgueil n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt, et forme une *mince pellicule*, en surface, au bout de trois semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin d'abord légèrement trouble, mais s'éclaircissant vite, et pouvant titrer jusqu'à 12°25 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient légèrement granuleuse en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente trois sortes de cellules, telles que :  $9,5 \times 5 \mu$ ,  $15 \times 4,5 \mu$  et  $9 \times 9,75 \mu$ . Celles du premier type sont plus les nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — La sporulation est très faible, sur Gorodkowa, ou sur bloc de plâtre. Sur le premier milieu, à 25°, au *bout d'un mois*, on obtient quelques asques, renfermant deux ascospores sphériques, qui mesurent  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie blanchâtre, à

contour régulier, dont la partie centrale se dresse en forme de cône. (voir Pl. V, A, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 50 h. | Raffinose  | : + faible. |

## Saccharomyces Bourgueil n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement, en dépôt, et forme, en surface, *une pellicule* bien nette au bout de



Fig. 15. — *Saccharomyces* Bourgueil N° 2. Cellules et zygosporé provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

3 semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°3 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient légèrement granuleuse en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture

présente surtout deux sortes de cellules telles que :  $9 \times 7,5 \mu$  et  $12 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses. Cette race appartient au type *cerevisiae*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à  $25^{\circ}$ , au bout de 7 jours, on obtient quelques asques, renfermant des ascospores sphériques, qui mesurent, en général,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent

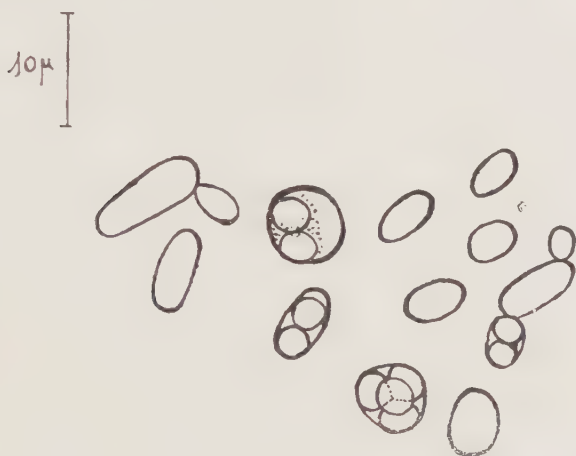


Fig. 16. — *Saccharomyces* Bourguell N° 2. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, présentant une pointe centrale et un sillon concentrique équidistant du centre et du bord. (Voir Pl. V, A, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |                                                        |
|-----------|----------------------|------------|--------------------------------------------------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active.                                            |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +                                                    |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —                                                    |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + très faible com-<br>mence au bout de<br>30 heures. |

*Saccharomyces Bourgueil n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt et forme, en surface, *de nombreux îlots*, bien caractérisés au bout de trois semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent presque uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est d'abord humide, blanche et brillante, mais au bout de 2 mois, toute la surface est vermiculée. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente trois sortes de cellules telles que :  $10,5 \times 6 \mu$ ,  $13,5 \times 4,5 \mu$  et  $16 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, *au bout de 7 jours*, on obtient quelques asques, renfermant de 1 à 4 ascospores sphériques, qui mesurent, en général, de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, large-

ment étalée, à contour découpé, parcourue de plis radiaux, allant de la périphérie jusqu'au centre. Nombreuses stries concentriques très rapprochées. (Voir Pl. V, A, photo 3).

*Action sur les principaux sucres.*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Bourgueil n° 4

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt, et forme un *voile épais* en surface, dès le septième jour. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°3 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après trois jours de croissance, à 25°, la culture présente deux sortes de cellules, telles que  $9,5 \times 6 \mu$  et  $15 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 6 jours quelques asques se sont formés. Ils renferment deux ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. La proportion d'asques a augmenté par chauffage de la culture sporulée, pendant une nuit, à 55°.

*Phénomènes sexuels.* — En ensemençant un grand nombre de cellules et d'ascospores sur moût gélosé, nous avons trouvé, entre lame et lamelle, des zygospores issues de copulations entre ascospores deux à deux. Cette Levure a donc une sexualité analogue à celle des autres espèces de *Saccharomyces*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, largement étalée, à contour découpé, parcourue de plis radiaux, allant de la périphérie jusqu'au centre. Nombreuses stries concentriques peu accusées. (Voir Pl. V, A, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Bourgueil n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt, et ne forme jamais de voile.

Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°7 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent presque exclusivement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est d'abord humide, blanche et brillante. Plus âgée, elle devient granuleuse et légèrement plissée. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente surtout deux sortes de cellules, telles que :  $9,5 \times 6 \mu$  et  $15 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 8 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 2 à 4 ascospores sphériques, mesurant, assez régulièrement,  $3,5 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent, deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux. Enfin, des copulations se produisant entre ascospore et cellule-fille sont très fréquentes.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie, commence à *liquéfier* la gélatine, deux mois après l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, très étalée, à contour découpé, parcourue de sillons radiaux, allant du centre à la périphérie et présentant des stries concentriques nombreuses mais peu accusées. (Voir Pl. V, A, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Bourgueil n° 6

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe, activement, en dépôt. Elle forme, en surface, de *fines granulations* assez nombreuses, au bout de trois semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°25 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent presque exclusivement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est d'abord humide, blanche et brillante. Plus âgée, elle présente une plaque centrale vermiculée. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture se compose de 3 sortes de cellules, telles que :  $12 \times 4,5 \mu$ ,  $18 \times 4,5 \mu$  et  $10 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 8 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 2 à 4 ascospores sphériques, mesurant de 2,8 à  $3 \mu$  de diamètre. On rencontre quelques ascospores plus petites ( $2,5 \mu$ ) et d'autres plus grosses ( $4,5 \mu$ ) que le type moyen.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, à surface granuleuse, présentant une pointe centrale et un sillon concentrique équidistant du bord et du centre. (Voir Pl. V, A, photo 6).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

Levures isolées des vins blancs de Saumur (Maine-et-Loire)

*Saccharomyces* Saumur n° 1

*Végétation sur moût liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt, et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 12°5, d'alcool. Les cellules formées



Fig. 17. — *Saccharomyces* Saumur N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélifié âgée de 3 jours.

au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, lisse, brillante et de couleur jaune pâle. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de

cellules, telles que :  $9,75 \times 6 \mu$ ,  $10,5 \times 6 \mu$ ,  $10,5 \times 8 \mu$  et  $10,5 \times 7,5 \mu$ . Celles des deux premiers types sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, au bout de 4 jours, à  $25^{\circ}$ , la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant en général de 3 à  $3,5 \mu$  de diamètre.



Fig. 18. — *Saccharomyces Saumur* N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux. Des zygospores, tardivement formées, peuvent se transformer directement en asques, lorsqu'elles sont ensemencées sur Gorodkowa. (Voir figure ci-dessus).

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie à contour régulier,

de couleur jaunâtre, dressée en forme de cône. (Voir Pl. VI, B, photo 5).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 60 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces Saumur n° 2*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt, et ne forme *pas de voile* en surface. Après 21 jours, on remarque toutefois quelques îlots transparents. Le *S. Saumur* N° 2 produit avec le moût de raisins, un vin d'abord trouble mais qui se clarifie rapidement. Ce vin peut titrer jusqu'à 11°25 d'alcool.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, brillante, de couleur jaune pâle. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est surtout formée de deux sortes de cellules telles que :  $9,75 \times 6 \mu$  et  $9,75 \times 7,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoïdeus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, au bout de 4 jours, à 25°, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, dont le diamètre moyen mesure  $3,25 \mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent très lentement. Une certaine proportion d'entre elles se fusionnent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux. Mais les cas de *parthénogénèse* sont assez fréquents.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie plate, de couleur jaunâtre, légèrement et régulièrement découpée. La zone externe présente quelques stries concentriques très peu marquées. La zone centrale est granuleuse. (Voir Pl. VI, B, photo 6).

*Action sur les principaux sucres.*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 5 j. | Raffinose  | : + faible. |

---

**Levures isolées des vins blancs d'Anjou (Maine-et-Loire).**

***Saccharomyces* Anjou n° 1**

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et, dès le neuvième jour, forme *un voile* qui devient très épais au bout d'un mois. Avec le moût de raisins, elle produit un



Fig. 19. — *Saccharomyces* Anjou N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°1 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient granuleuse en vieillissant. La culture présente au bout de 3 jours de croissance, à 25°, plu-

sieurs sortes de cellules telles que :  $11 \times 4,5 \mu$ ,  $21 \times 4,5 \mu$  et  $10,5 \times 6 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante' au bout de 9 jours. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3,25 \mu$  de diamètre.



Fig. 20. — *Saccharomyces* Anjou N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Grande colonie blanche, à contour découpé, présentant de nombreux plis radiaux très marqués et de nombreuses stries concentriques. Aspect écailleux. (Voir Pl. V, B, photo 1).

#### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 2 j. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Anjou n° 2

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme, en surface, un anneau au bout d'un mois. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair pouvant titrer jusqu'à 13°4 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et légèrement sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient granuleuse en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente plusieurs sortes de cellules telles que :  $11 \times 4,5 \mu$ ,  $21 \times 4,5 \mu$  et  $10,5 \times 6,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses. Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante au bout de 4 jours. Les ascques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, assez régulièrement,  $3,25 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine, pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Grande colonie blanchâtre, à contour découpé, présentant des plis radiaux et des stries concentriques nombreuses mais peu accusées. (Voir Pl. V, B, photo 2).

### *Action sur principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 2 j. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces Anjou n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme, en surface, au bout d'un mois, *un anneau assez large* adhérent sur le verre du tube de culture. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 13°75 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient granuleuse en vieillissant. Au bout de 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente trois sortes de cellules, telles que :  $10,5 \times 5 \mu$ ,  $10,5 \times 7,5 \mu$  et  $15 \times 5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre. On rencontre une proportion sensible d'ascospores plus petites ( $2 \mu$ ).

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie, commence à liquéfier la gélatine 60 jours après l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie étalée, à contour découpé, blanchâtre, présentant des plis radiaux et des stries concentriques peu accusées. (Voir Pl. V, B, photo 3).

#### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

### *Saccharomyces* Anjou n° 4

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt et forme un anneau assez bien caractérisé au bout d'un mois. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°4 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient légèrement granuleuse en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente trois sortes de cellules telles que :  $9 \times 5,25 \mu$ ,  $11 \times 3,5 \mu$  et  $9 \times 6,75 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la sporulation est abondante au bout de 4 jours. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, à contour régulier, à surface granuleuse, présentant une pointe dans la partie centrale. (Voir Pl. V, B, photo 4).

#### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

## *Saccharomyces* Anjou n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt, et forme *de larges îlots*, envahissant presque toute la surface, au bout de trois semaines. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 12°,6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent presque uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélifié.* — La colonie est humide, blanche, brillante et devient légèrement granuleuse en vieillissant. Après 3 jours de croissance, à 25°, la culture présente trois sortes de cellules, telles que :  $11 \times 4,5 \mu$ ,  $18 \times 4,5 \mu$  et  $10 \times 6,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, on obtient *quelques asques au bout de 25 jours*. Ils renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant de 3 à  $3,25 \mu$ .

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie *commence à liquéfier la gélatine 60 jours après* l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie géante à contour légèrement découpé, de couleur blanchâtre. La surface présente des stries concentriques très marquées dans la région centrale. (Voir Pl. V, B, photo 5).

### *Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : + active. |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 2 j. | Raffinose  | : + faible. |

---

Levures isolées  
des vins blancs de Muscadet nantais (Loire-Inférieure)

*Saccharomyces* Muscadet nantais n° 1

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt. Au bout de 20 jours, elle forme *en surface un voile épais, vermiculé*, qui se désagrège et tombe, progressivement, au sein du liquide fermenté. Avec le moût de raisins, le *S. Muscadet nantais*



Fig. 21. — *Saccharomyces* Muscadet nantais N° 1. Cellules provenant d'une culture sur moût de bière gélosé âgée de 3 jours.

N° 1 produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 10°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie jeune est humide, blanche et brillante. Au bout d'un mois

elle devient vermiculée dans la zone centrale. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $12 \times 5,25 \mu$ ,  $20 \times 4,75 \mu$  et  $10,5 \times 9 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant  $3,30 \mu$  de diamètre. On remarque quelques formes naines ( $2,75 \mu$ ) et quelques formes géantes ( $4,75 \mu$ ).



Fig. 22. — *Saccharomyces Muscadet nantais* N° 1. Asques obtenus sur milieu de Gorodkowa.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélifié, les ascospores germent très lentement et bourgeonnent sans se fusionner. La *parthénogénèse* est complètement installée dans ce *Saccharomyces*.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie commence à liquéfier la gélatine deux mois après l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélifié.* — Colonie blanchâtre, étalée, à contour découpé, plissée radialement, et dont la surface présente de nombreuses stries concentriques. Aspect vermiculé. (Voir Pl. VI, A, photo 1).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces Muscadet nantais n° 2*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette Levure se développe activement en dépôt. Au bout de 21 jours, elle a formé *un voile épais*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 10°9. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois latérales de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules, Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et vermiculée, comme la précédente. Après 3 jours de croissance, à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $12 \times 6 \mu$  et  $20 \times 4,75 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette levure appartient au type *pastorianus*.

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, *au bout de 4 jours*, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne  $3,30 \mu$  de diamètre. On remarque la présence de formes naines ou géantes, comme chez la race précédente.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent très lentement et bourgeonnent sans copuler. La *parthénogénèse* est complètement installée.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, étalée, à contour découpé, plissée radialement, et présentant de nombreuses stries concentriques plus marquées dans la région centrale. (Voir Pl. VI A, photo 2).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                     |            |             |
|-----------|---------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 | Lactose    | : —         |
| Galactose | : — au bout de 5 j. | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces Muscadet nantais n° 3*

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette levure se développe activement en dépôt. Au bout de 11 jours, elle a formé *un voile épais*, en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer 12°5 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent au fond et sur les parois de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie humide et blanchâtre devient vermiculée au bout d'un mois. Après 3 jours de croissance à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que :  $9 \times 6 \mu$ ,  $13,5 \times 4,5 \mu$  et  $7,5 \times 6,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideo-pastorianus*.

*Sporulation et dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, on obtient des asques renfermant de 1 à 4 ascospores sphériques mesurant, en moyenne,  $3,5 \mu$  de diamètre. Il existe également quelques formes naines ou géantes comme chez les deux races précédentes.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent lentement et bourgeonnent sans se conjuguer. La *parthénogénèse* est complètement installée.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie géante blanchâtre, étalée, à contour découpé, à surface plissée radialement et présentant des stries concentriques très accusées dans la zone centrale. Aspect vermiculé. (Voir Pl. VI, A, photo 3).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 36 h. | Raffinose  | : + faible. |

*Saccharomyces Muscadet nantais n° 4*

*Végétation sur moût liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette race se développe activement en dépôt. Au bout de 21 jours, elle forme des *granulations épaisses*, en surface. Avec le moût de raisins, elle produit un vin clair, pouvant titrer jusqu'à 10°5. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent presque exclusivement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Au bout de 3 jours, à 25°, le type le plus courant des cellules mesure :  $9 \times 5,25 \mu$ .

Cette race appartient au type *ellipsoideus* normal.

*Sporulation ; Dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, la *sporulation est abondante*. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3,30 \mu$  de diamètre. On remarque quelques formes naines ( $2,75 \mu$ ) ou géantes ( $4,75 \mu$ ).

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent très rapidement et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie *liquéfie la gélatine* deux mois après l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanchâtre, plate, à contour régulier, dont la surface est granuleuse dans la région centrale et ornée de quelques stries concentriques peu marquées, dans la zone la plus externe. (Voir Pl. VI, A, photo 4).

*Action sur les principaux sucres :*

|           |                      |            |             |
|-----------|----------------------|------------|-------------|
| Glucose   | : +                  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 48 h. | Raffinose  | : + faible. |

## Saccharomyces Muscadet nantais n° 5

*Végétation sur moût de bière liquide.* — Ensemencée sur moût de bière liquide, cette race se développe activement en dépôt et ne forme *jamais de voile*. Avec le moût de raisins, elle produit un vin légèrement trouble au début, qui se clarifie rapidement et peut titrer jusqu'à 12°6 d'alcool. Les cellules formées au cours de la fermentation se déposent uniquement au fond de l'Erlenmeyer.

*Dimensions des cellules. Végétation sur moût gélosé.* — La colonie est humide, blanche et brillante. Après 3 jours de croissance à 25°, elle est formée de plusieurs sortes de cellules, telles que  $9 \times 5 \mu$ ,  $12 \times 3,75 \mu$  et  $15 \times 4,5 \mu$ . Celles du premier type sont les plus nombreuses.

Cette race appartient au type *ellipsoideus* et peut être assimilée au *S. ellipsoideus* d'Hansen (souche Baarn).

*Sporulation ; dimensions des ascospores.* — Sur Gorodkowa, à 25°, au bout de 4 jours, la sporulation est abondante. Les asques renferment de 1 à 4 ascospores sphériques, mesurant, en moyenne,  $3 \mu$  de diamètre.

*Phénomènes sexuels.* — En chambre de Van Tieghem, sur goutte pendante de moût gélosé, les ascospores germent rapidement et se conjuguent deux à deux, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes, qui copulent, bientôt, deux à deux.

*Liquéfaction de la gélatine.* — La culture en strie ne liquéfie pas la gélatine pendant les trois premiers mois qui suivent l'ensemencement.

*Colonie géante sur moût gélatiné.* — Colonie blanche, lisse, à contour régulier, qui ressemble à celle de la souche de *S. ellipsoideus* d'Hansen. (Voir Pl. VI, A, photo 5).

### Action sur les principaux sucres :

|           |                     |  |            |             |
|-----------|---------------------|--|------------|-------------|
| Glucose   | : +                 |  | Saccharose | : +         |
| Fructose  | : +                 |  | Maltose    | : +         |
| Mannose   | : +                 |  | Lactose    | : —         |
| Galactose | : + au bout de 5 j. |  | Raffinose  | : + faible. |

## DEUXIÈME PARTIE

REMARQUES GÉNÉRALES  
SUR LA BIOLOGIE DES LEVURES DU VIN  
ET LEUR RÔLE DANS LA VINIFICATION



### Caractères morphologiques des cellules.

Presque toutes les races de Levures isolées au cours de cette étude peuvent être rangées dans les trois types : *ellipsoideus*, *cerevisiae* et *pastorianus* caractérisés respectivement par des cellules elliptiques, ovoïdes ou allongées en forme de saucisse. Toutefois, quelques races sont constituées par des cellules nettement plus longues que celles du *S. ellipsoideus* et plus courtes que celles des races type *pastorianus*. Elles ont été groupées dans un type intermédiaire appelé type *ellipsoideo-pastorianus*.

Les races type *cerevisiae* sont rares, celles des types *pastorianus* et *ellipsoideo-pastorianus* plus fréquentes et celles du type *ellipsoideus* de beaucoup les plus répandues.

Généralement, plusieurs races des différents types se développent, côte à côte, dans les vins en fin de fermentation. Dans le Muscadet nantais, par exemple, sur cinq races isolées, deux appartiennent au type *ellipsoideus* (Races N<sup>os</sup> 4 et 5), deux autres au type *pastorianus* (Races N<sup>os</sup> 1 et 2) et la cinquième au type *ellipsoideo-pastorianus*.

Mais les races d'un certain type isolées d'un même vin ont beaucoup plus d'analogies entre elles qu'avec celles du même type mais provenant d'un autre vin. Les deux précédentes races de *pastorianus* sont formées de cellules assez ressemblantes, par contre, elles diffèrent nettement des races type *pastorianus* isolées du vin de Sauvignon. Celles-ci, également très ressemblantes entre elles, sont bien distinctes des races type *pastorianus* isolées des vins de Mont.

Ces remarques nous amènent à conclure, qu'au point de vue de la morphologie cellulaire, les groupes des races de chacun des types *ellipsoideus*, *cerevisiae*, *ellipsoideo-pastorianus* et *pastorianus* sont assez spéciaux pour chaque vin.

Le tableau ci-après reproduit les résultats de nos observations.

## CLASSIFICATION DES RACES PAR LA FORME DES CELLULES

| VINS D'ORIGINE<br>DES LEVURES | TYPE<br><i>CEREVISIAE</i> | TYPE<br><i>ELLIPSOIDEUS</i>                                                           | TYPE<br><i>ELLIPSOIDEO-<br/>PASTORIANUS</i> | TYPE<br><i>PASTORIANUS</i> |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------|
| QUINCY.                       | Race N° 3.                | a) type normal.<br>Races N°s 1, 4, 6.<br>b) type petites cellules.<br>Races N°s 2, 5. |                                             |                            |
| SAUVIGNON.                    |                           | type normal.<br>Race N° 3.                                                            |                                             | Races N°s 1, 2, 4.         |
| POUILLY-ORDINAIRE.            |                           | a) type normal.<br>Races N°s 1, 2, 4.<br>b) type petites cellules.<br>Races N°s 3, 5. |                                             |                            |
| POUILLY-FUMÉ.                 |                           |                                                                                       | Races N°s 2, 3, 4,<br>5, 6.                 | Race N° 1.                 |
| MONT.                         |                           | type petites cellules.<br>Races N°s 2, 3, 4, 6, 7.                                    | Races N°s 5, 9.                             | Races N°s 1, 8.            |

|                   |            |                                                                      |                          |                 |
|-------------------|------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------|
| GRIS-MEUNIER.     | Race N° 3. | type normal.<br>Races Nos 1, 2, 4, 6.                                | Race N° 5.               |                 |
| VOUVRAY-BARRE.    |            | type à petites cellules.<br>Races Nos 1, 2, 3.                       |                          |                 |
| VOUVRAY-BOURG.    |            | type normal.<br>Races Nos 1, 2.                                      |                          |                 |
| SAUMUR.           |            | type normal.<br>Races Nos 4, 2.                                      |                          |                 |
| ANJOU.            |            | type normal.<br>Race N° 4.                                           | Races Nos 3, 5.          | Race N° 1.      |
| MUSCADET NANTAIS. |            | type normal.<br>Races Nos 4, 5.                                      | Race N° 3.               | Races Nos 1, 2. |
| BOURGUEIL.        | Race N° 2. | type normal.<br>Race N° 1.                                           | Races Nos 3, 4, 5,<br>6. |                 |
| VOUVRAY 1936.     |            | type normal.<br>Race N° 3.<br>type à petites cellules.<br>Race N° 1. | Race N° 2.               |                 |

### La sporulation.

Presque toutes les races précédentes possèdent la propriété de sporuler d'une manière remarquablement constante. Une seule est restée asporogène après les tentatives d'enrichissement en ascospores, par chauffage de la culture sur Gorodkowa, à 50-55°.

La sporulation, d'une manière générale, est abondante et rapide. Les ascospores, placées dans un milieu nutritif, germent aisément et constituent un matériel de choix pour l'étude des phénomènes sexuels du genre *Saccharomyces*.

Toutes les observations suivantes ont été faites sur des cultures obtenues sur milieu de Gorodkowa, à température constante. Ces précautions ont permis de comparer les vitesses respectives de sporulation des diverses races. Cultivées à 25°, sur Gorodkowa, 33 souches sur 62 sporulent en quatre jours et certaines d'entre elles, notamment les races de *S. Sauvignon* Nos 1, 2, 4, *S. Vouvray-Bourg* Nos 1 et 2, *S. Saumur* Nos 1 et 2, *S. Vouvray* 1936 N° 1, renferment, déjà, de nombreux asques 48 heures après l'ensemencement. Parfois, la proportion d'asques représente 95 % de l'ensemble des cellules.

16 autres races ont sporulé au bout de 8 jours.

8 autres exigèrent 20 jours de culture.

2 autres ne sporulèrent que faiblement et seulement au bout de 45 jours.

Les tentatives d'enrichissement en ascospores, par chauffage de la culture sporulée, à 55°, nous permirent de découvrir des ascospores sur les races de *S. Pouilly-ordinaire* N° 3 et *Mont* N° 1 qui, d'abord, apparaissaient comme deux races asporogènes. Seule la race de *S. Mont* N° 4, signalée plus haut, est restée asporogène, même après chauffage de la culture sporulée, sur tous les milieux usuels : Gorodkowa, tranches de carotte ou bloc de plâtre.

La culture sur milieux biologiques, entraîne une diminution du pouvoir sporogène chez toutes les races et, parfois, une disparition totale à plus ou moins longue échéance. Notamment, les races de *S. Sauvignon* N° 1, *S. Bourgueil* N° 2, *S. Mont* N° 9, ont perdu la faculté de sporuler après quatre ans de culture, sur moût de bière gélifié.

*Nombre d'ascospores par asque.* — Dans toutes les races sporulant abondamment, les asques renferment généralement de 3 à 4 ascospores.

Pour les races sporulant plus difficilement, le nombre d'asques à deux ascospores domine.

Quelques races de *Saccharomyces* type *pastorianus* présentent quelques cellules géantes, allongées en forme de saucisse et pouvant atteindre jusqu'à 30  $\mu$ .

Les asques correspondants peuvent renfermer de 8 à 12 ascospores. Toutefois, dans ce cas, on peut supposer qu'une seule cellule représente, en réalité, un article. Cette anomalie pourrait être rapprochée d'un phénomène analogue observée par GUILLIERMOND [29, g] chez l'*Eremascus fertilis*. Dans ce champignon, sur un filament terminal, six articles successifs ont produit de nombreux asques, sans que se forment les membranes de séparation.

HANSEN a déjà signalé des asques à 8 ascospores chez certaines races de *pastorianus*, isolées de bières troubles ; mais les races du type *pastorianus* recueillies dans les vins de Sauvignon, font fermenter assez activement les jus sucrés et produisent des vins clairs. Elles ne sont donc pas assimilables aux races décrites par HANSEN.

*Forme et dimensions des ascospores.* — Toutes les races, à l'exception de la race Pouilly-ordinaire N° 3, ont des ascospores de forme identique : elles sont sphériques et lisses. Celles de la race Pouilly-ordinaire N° 3 sont souvent elliptiques ou réniformes. Pour beaucoup d'espèces de Levures, la forme de l'ascospore fournit un caractère dichotomique précieux. Dans le genre *Debaryomyces*, les ascospores sont sphériques et rugueuses ; dans le genre *Willia* elles portent un rebord saillant, comme celui d'un chapeau, ou bien elles sont munies d'un anneau externe, ressemblant à l'anneau de la planète Saturne. Dans le cas des Levures du vin, la forme de l'ascospore n'apporte aucun caractère dichotomique particulier. Au contraire, l'uniformité d'aspect montre l'homogénéité de tout le groupe des races décrites.

Les dimensions peuvent varier d'une race à l'autre. Dans presque toutes les races, il existe une proportion importante d'ascospores mesurant de 3 à 3,5  $\mu$ . Mais pour certaines races les dimensions varient du simple au double. Particulièrement dans les races

*S. Quincy* N<sup>os</sup> 2 et 3, *S. Vouvray-Barre* N<sup>o</sup> 1, *S. Muscadet* N<sup>os</sup> 1 et 2, de *S. Vouvray* 1936 N<sup>o</sup> 1, on rencontre à la fois des ascospores de  $2,5\mu$  et d'autres de  $4,5\mu$  et même  $5\mu$ . Deux ascospores géantes peuvent se trouver dans un même asque, mais une ou deux naines accompagnent souvent une troisième de grosse taille. En général, les ascospores occupent presque complètement le volume de l'asque, mais, dans certains cas, une ou deux naines sont accolées à la paroi interne, tandis que presque tout le volume interne reste inoccupé.

Les phénomènes de parthénogénèse, qui se manifestent chez certaines races, semblent responsables de la formation des ascospores naines et nous avons remarqué que la proportion d'ascospores de 3 à  $3,5\mu$  était plus grande chez les races ayant une sexualité régulière.

KRUIS et SATAWA [72, b] ont montré que les cultures dérivant de cellules asexuelles gardaient encore la propriété de sporuler mais le pouvoir sporogène des souches-filles était plus faible que celui de la souche initiale. Par des prélèvements successifs, ils ont cherché à obtenir des souches asporogènes. Ils n'aboutirent jamais à un tel résultat. Les deux savants tchèques remarquèrent, d'autre part, que, dans les souches-filles, les ascospores étaient plus petites que dans la souche initiale.

Mais d'importantes découvertes ont été faites sur la sexualité des Levures, depuis les Travaux de KRUIS et SATAWA. On verra plus loin que, contrairement à ce que l'on pensait à cette époque, dans le genre *Saccharomyces*, les phénomènes sexuels ne se traduisent pas fatalement par une conjugaison des ascospores deux à deux. Une importante proportion d'entre elles germent, directement, en donnant naissance à de petites cellules qui, très souvent, se fusionnent, deux à deux, pour former des zygosporos identiques à celles qui résultent des conjugaisons d'ascospores (1). Le terme de cellules asexuelles ne peut donc pas s'appliquer à toutes celles qui dérivent du bourgeonnement direct des ascospores, mais, seulement, à celles, d'entre elles, qui sont vraiment incapables de se conjuguer deux à deux. Cette restriction nous a amené à reprendre l'étude de la parthénogénèse chez les Levures du vin.

(1) KRUIS et SATAWA les premiers ont signalé des conjugaisons s'effectuant aux dépens des cellules deux à deux, mais le phénomène a été précisé par les travaux de WINGE.

En utilisant la méthode du raccourcissement du cycle évolutif, décrite plus loin, au chapitre de la sexualité, nous avons montré que la parthénogénèse existait réellement. Enfin, grâce au micromanipulateur, nous avons pu prélever des cellules issues du bourgeonnement direct de certaines ascospores et étudier leur devenir.

Nos recherches ont porté surtout sur les races de *S. Vouvray* 1936 N° 1 et *S. Muscadet* nantais N° 4. Dans la première, la parthénogénèse était déjà à peu près complètement installée au moment des observations, mais le dépôt des cellules jeunes sur bloc de plâtre provoquait, au bout de 48 heures, une abondante sporulation. En comparant les souches-filles à la souche initiale, nous n'avons pas constaté de diminution sensible dans la proportion des asques formés. Les asques issus des cellules parthénogénétiques ne renfermaient qu'une ou deux ascospores, le plus souvent de petite taille ( $2,5\ \mu$ ). Mais cette loi n'est pas exacte au sens absolu. En effet, certaines étaient de taille normale ( $3\ \text{à}\ 3,5\ \mu$ ) et parfois de taille géante ( $4,5\ \text{à}\ 5\ \mu$ ).

La race *S. Muscadet* N° 4, très sporogène, est caractérisée par une abondante formation de zygosporos, au moment de la germination des ascospores. A l'aide du micromanipulateur de DE FONTBRUNE, nous avons trié et placé en goutte de moût de bière liquide, sous chambre à huile, une dizaine d'asques. Au moment de la germination, les ascospores de deux d'entre eux ont bourgeonné, directement, sans phénomènes sexuels. Leurs souches-filles ont sporulé normalement, en produisant des ascospores de taille normale. Certaines ascospores, en germant, ont donné naissance à des zygosporos identiques à celles de la souche initiale.

Enfin, une dernière série d'observations a été faite sur d'autres races de Levures faiblement sporogènes. Dans ce cas, les souches-filles, dérivant du bourgeonnement direct d'ascospores, avaient un pouvoir sporogène plus faible que celui de la souche initiale. Les derniers résultats sont conformes à ceux de KRUIS et SATAWA.

En conclusion, il semble que, si la parthénogénèse entraîne une diminution progressive du pouvoir sporogène des Levures, ainsi que l'apparition d'ascospores naines, ces modifications ne sont pas immédiates. Elles se font par étapes et leur importance, d'une culture à la suivante, dépend beaucoup des races envisagées.

L'état diploïde des cellules se rétablissant normalement, grâce

aux phénomènes sexuels au moment de la germination des ascospores, semble nécessaire pour qu'à la fin du cycle évolutif une nouvelle sporulation se déclenche régulièrement. La parthénogénèse entraîne, chez les races peu sporogènes, une diminution rapide du pourcentage d'asques formés et l'apparition d'ascospores atrophiées au moment de la sporulation. Pour les races très sporogènes, la dégénérescence est plus lente. Elles semblent d'abord passer par une phase intermédiaire, pendant laquelle elles restent très sporogènes, mais forment, souvent, des ascospores dimorphes.

### Remarques biologiques et cytologiques sur la sexualité des levures du vin.

Les recherches de GUILLIERMOND ont montré que, chez les Levures, suivant les espèces, les phénomènes sexuels peuvent se produire à deux stades très différents du cycle évolutif. Pour celles des genres *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Zygopichia*, *Debaryomyces*, ils se manifestent immédiatement avant la sporulation. Certaines cellules végétatives, transformées en gamètes, se fusionnent, deux à deux, en donnant des zygosporos dans lesquelles les ascospores prennent naissance. Dans le genre *Nadsonia*, étudié par NADSON [58], les phénomènes sont analogues, mais les deux noyaux de la zygosporo forment un dicaryon au lieu de se fusionner et émigrent dans un bourgeon produit par la zygosporo. Après caryogamie, le bourgeon devient un asque.

Par contre, pour les espèces des genres *Saccharomycodes*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, la sporulation se fait directement, sans sexualité. Placées dans des conditions d'inanition, par exemple sur bloc de plâtre humide, les cellules végétatives deviennent granuleuses, accumulent du glycogène et se transforment en asques, renfermant généralement de une à quatre ascospores. La sexualité se produit au moment de la germination des ascospores. Dans un milieu nutritif, comme le moût de bière, celles-ci germent assez rapidement et se fusionnent deux à deux, ou bourgeonnent, isolément, en donnant naissance à de petites cellules, qui, comme les ascospores, se conjuguent, bientôt, deux à deux.

Le noyau des Levures étant très petit, il n'est pas possible de compter le nombre des chromosomes avec certitude, mais il est très

vraisemblable d'admettre que, comme pour les autres Ascomycètes, la réduction chromatique s'accomplit au cours des deux premières mitoses de l'asque. Les phénomènes sexuels divisent donc les Levures en deux groupes. Les espèces des genres *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Zygopichia*, *Debaryomyces*, *Nadsonia*, ont une phase diploïde réduite à la zygospore ; elles forment un premier groupe. Par contre, les espèces des genres *Saccharomycodes*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, doivent être rangées dans un second groupe. Pour elles, la diplophase commence à la zygospore et se continue pendant tout le cycle de développement, jusqu'à la sporulation.

Ces faits étant établis d'une manière très sommaire, nous allons maintenant les examiner en détail.

L'étude de la sexualité des Levures a nécessité de longues recherches, dont nous avons déjà brièvement retracé l'histoire, au début de ce travail.

En 1901, simultanément, BARKER [3] en Angleterre et GUILLIERMOND [29, c] en France découvrirent, dans deux espèces différentes, une conjugaison isogamique, se produisant à l'origine de l'asque.

A la même époque, GUILLIERMOND [29, a], pour la première fois, caractérisait nettement le noyau des Levures et décrivait, dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus*, deux mitoses analogues à celles des asques des autres Ascomycètes. Ces importants résultats mirent en évidence les liens de parenté unissant les Levures aux Ascomycètes et particulièrement aux Ascomycètes inférieurs.

Dans le cas du *Schizosaccharomyces octosporus* comme dans ceux des *Schizosaccharomyces pombe* et *mellacei*, étudiés par GUILLIERMOND, la conjugaison est isogamique car elle s'effectue entre deux cellules gamètes de même taille. Mais elle peut être hétérogamique et se produire entre une cellule adulte et son bourgeon en voie de formation. Tout le contenu du bourgeon émigre vers la cellule adulte qui deviendra l'asque. Le premier exemple de conjugaison hétérogamique a été signalé par GUILLIERMOND [29, i] chez le *Zygospichia Chevalieri*, rapporté d'Afrique occidentale par la mission Chevalier. Enfin, dans toutes les espèces précédentes, à côté des asques dérivant de conjugaison iso- ou hétérogamiques, il en existe d'autres se formant uniquement par parthénogénèse.

En étudiant les genres *Torulaspora* et *Schwaniomyces*, GUILLIERMOND a décrit des espèces chez lesquelles la parthénogénèse était totale. Les cellules se transforment directement en asques, après avoir formé des petits tubes au moyen desquels elles cherchent à copuler sans y parvenir.

Le mode de sexualité des Levures à sporulation directe est moins apparent que le précédent, car il ne se produit qu'au moment de la germination des ascospores. Son étude exige un ensemencement des asques sur un milieu nutritif, en chambre de Van Tieghem et Le Monnier. Jusqu'à une époque assez récente, il resta ignoré de la plupart des mycologues. En 1903, sur le *Saccharomyces Johannisbergensis* II, GUILLIERMOND [29, e, f] découvrit des conjugaisons se produisant entre ascospores deux à deux. Il montra d'autre part que ces copulations étaient accompagnées de caryogamie et présentaient, par conséquent, la valeur d'un véritable acte sexuel. Mais, à cette époque, on ne connaissait pas de phénomènes analogues chez les autres Ascomycètes inférieurs et les résultats de GUILLIERMOND, en apparence aberrants, furent d'abord critiqués par DANGEARD [16] puis KNIEP [38]. Par la suite, en étudiant des espèces de Levures très variées, MARCHAND [49], NÉGRONI [59], CAPITAIN [8] et RENAUD [57, a] retrouvèrent, fréquemment, ce mode de sexualité et confirmèrent les premières observations de GUILLIERMOND.

Dans le cas du *Saccharomyces Ludwigii*, les copulations se font toujours entre les ascospores deux à deux. Mais dans toutes les autres races, à côté des ascospores se conjuguant normalement, deux à deux, beaucoup d'autres bourgeonnent isolément en donnant naissance à de petites cellules qui, pendant longtemps, ne retinrent pas l'attention. On expliquait simplement par la parthénogénèse les cas de bourgeonnement isolés. Cette interprétation était fautive. KRUIS et SATAWA [40, a] puis WINGE [85] et GUILLIERMOND [29, n] ont suivi plus attentivement le devenir des petites cellules issues des germinations directes d'ascospores. Ils ont constaté qu'elles se fusionnaient bientôt, deux à deux, pour produire des zygosporos identiques à celles que forment les ascospores en copulant. Les observations de ces auteurs ont un caractère général. A l'exception du *Saccharomyces Ludwigii* qui se comporte comme une espèce complètement diplobiontique, toutes les autres espèces à sporula-

tion directe présentent fréquemment une haplophase de quelques cellules allant de la germination de l'ascospore jusqu'à la formation de la zygospore. Chez *Hansenula Saturnus*, étudié par Mlle MANUEL [48, a], l'haplophase est encore plus importante. Par leur sexualité, les Levures des genres *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, se distinguent donc des Ascomycètes inférieurs. Par contre, comme l'a fait remarquer GUILLIERMOND, elles ont un cycle de développement qui les apparente aux Exoascées du type *Taphrina epiphylla*, étudiées par Mlle WIEBEN [84]. Ces Champignons forment à la surface des feuilles parasitées des asques comparables à ceux des *Saccharomyces*. Les phénomènes sexuels sont analogues dans les deux cas. La seule différence notable apparaît dans la comparaison des diplophases. Alors que chez les Exoascées la zygospore donne naissance à un mycelium dicaryotique, les cellules dicaryotiques n'ont pas encore été caractérisées nettement dans les espèces de *Saccharomyces* actuellement connues.

#### Étude des phénomènes sexuels. Races hybrides.

En chambre de Van Tieghem et Le Monnier, en utilisant le moût de bière comme milieu de culture, nous avons étudié la sexualité de toutes les races isolées des différents vins du Val de Loire. Les observations étaient facilitées par une germination rapide des ascospores et par une multiplication cellulaire active. Nous n'avons jamais constaté de phénomènes sexuels se produisant immédiatement avant la sporulation. Toutes les races sporulent, directement, par transformation des cellules végétatives en asques, lorsque le milieu s'appauvrit ou qu'elles sont placées dans des conditions d'inanition. Aucune d'elles n'appartient donc aux genres *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Zygopichia*, *Debaryomyces* ou *Nadsonia*. Dans toutes les races à l'exception de deux — une étant asporogène et l'autre parthénogénétique — les ascospores, en germant, se conjuguent deux à deux ou bourgeonnent isolément, en donnant naissance à de petites cellules haploïdes, qui se fusionnent, bientôt, en formant des zygospores identiques à celles que produisent les ascospores en copulant. Les conjugaisons, dans toutes les races, peuvent également se produire entre une ascospore et un des

bourgeons auxquels elle a donné naissance. Toutes les races sont donc *homothalliques*. Les zygospores bourgeonnent aussitôt et les nombreuses générations de bourgeons diploïdes apparus se transforment, à nouveau, directement en asques, lorsque l'aliment est épuisé. Nos résultats confirment donc complètement ceux de KRUIS et SATAWA, WINGE et GUILLIERMOND. Ils montrent la grande généralité de ce mode de sexualité qui mérite d'être considéré comme un des caractères fondamentaux du genre *Saccharomyces* (Voir fig. 23).

WINGE et LAUSTEN [86, c], sur divers *Saccharomyces* isolés de la fermentation panaire, ont montré que les conjugaisons entre ascospores peuvent aussi se produire lorsque celles-ci proviennent de races différentes. Dans ce cas, la copulation donne une hétérozygote qui bourgeonne normalement en produisant une nouvelle race hybride. Mlle MANUEL (1) a isolé, à l'aide du micromanipulateur de DE FONTBRUNE, deux ascospores de races de *Saccharomyces* différentes. La première ascospore provenait du *Saccharomyces* Muscadet nantais n° 4, la seconde du *Saccharomyces* Pouilly-Fumé N° 5. Placées, côte à côte, en chambre à huile, dans une goutte de moût liquide, elles se sont fusionnées rapidement, en donnant naissance à une hétérozygospore bourgeonnant normalement. Les importantes découvertes de WINGE et LAUSTEN s'appliquent donc, également aux *Saccharomyces* isolés du vin. Elles montrent que, dans la nature, lorsque dans un mélange de races de *Saccharomyces* des ascospores germent côte à côte, de nouvelles races apparaissent par hybridation. Les phénomènes sexuels jouent donc un rôle considérable dans l'évolution des espèces de *Saccharomyces* qui composent la microflore des Levures du vin.

*La Parthénogénèse.* — L'existence de conjugaisons s'effectuant, indifféremment, soit entre les ascospores deux à deux, soit entre les premières cellules-filles issues du bourgeonnement direct, nous a amené à préciser, à nouveau, le rôle de la parthénogénèse, auquel on avait tout d'abord attribué une beaucoup trop grande importance. En effet, une question se posait : dans les races de *Saccharomyces* où se produit normalement le mode de sexualité précédent,

(1) Observation inédite.

ne peut-il pas exister des ascospores germant isolément et donnant naissance à des cellules qui se multiplient jusqu'à la formation des asques, sans conjugaisons, par parthénogénèse ?

La race de *S. Vouvray* 1936 N° 2 était particulièrement favorable à l'étude de ce problème. Ce *Saccharomyces* sporule abondamment sur milieu de Gorodkowa ou sur bloc de plâtre. Quelques

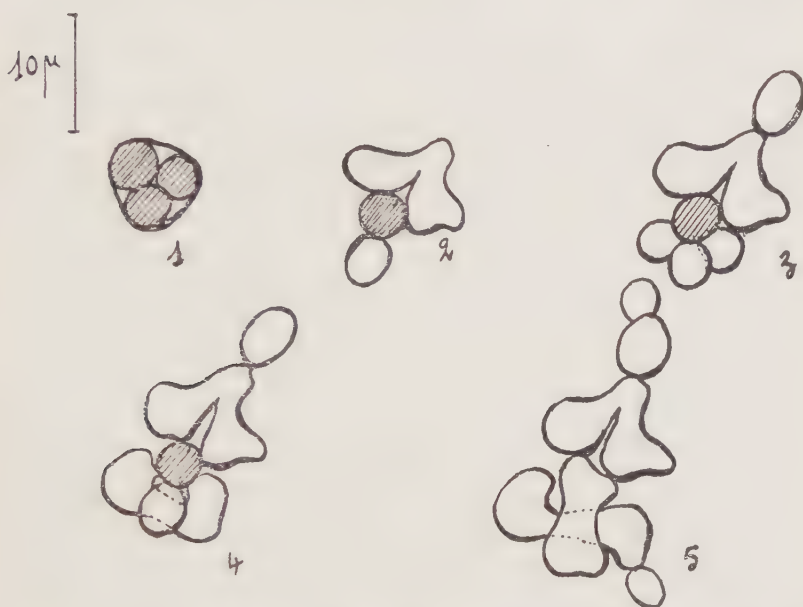


Fig. 23. — 1, 2, 3, 4 et 5. Diverses étapes des phénomènes sexuels observés sur un asque à trois ascospores. 1 : asque à trois ascospores ; 2 : deux ascospores se sont fusionnées, la troisième a formé un bourgeon ; 3 : la troisième ascospore a formé deux nouveaux bourgeons ; 4 : deux des bourgeons issus de la troisième ascospore se sont fusionnés ; 5 : le troisième bourgeon s'est fusionné avec l'ascospore.

jours après l'ensemencement, 90% des cellules végétatives sont sporulées. Les asques renferment de une à quatre ascospores, ceux à deux étant les plus nombreux. Sur goutte pendante de moût gélifié, en chambre de Van Tieghem et Le Monnier, les asques se gonflent et présentent une déhiscence précoce et les ascospores s'écartent presque toujours l'une de l'autre au lieu de rester étroitement accolées, comme dans la plupart des autres espèces. La ger-

mination se traduit par un bourgeonnement direct de l'ascospore au moins 99 fois sur 100. Jamais, dans les cultures sur chambre humide, nous n'avons rencontré les phénomènes sexuels habituels. Afin de multiplier les observations, nous avons fait des ensemencements sur divers milieux, en tubes à essai, en partant de vieilles cultures abondamment sporulées et nous avons suivi le début de la germination sur de nombreux prélèvements examinés entre lame et lamelle. Par cette méthode, nous n'avons trouvé que deux zygospores.

Toutefois, on pouvait supposer que la conjugaison survenait plus tardivement et, comme il est pratiquement impossible de suivre d'une manière rigoureuse, toute une colonie en chambre humide, depuis l'ascospore mère jusqu'à l'apparition de nouveaux asques, nous avons utilisé une autre méthode, due à GUILLIERMOND, et qui permet d'obtenir expérimentalement, côte à côte, les deux stades extrêmes, du cycle de développement. La culture sporulée est placée d'abord sur moût de bière liquide pendant 12 heures, puis ensuite transportée sur plâtre avec toutes les précautions aseptiques nécessaires. Le séjour de la Levure sur moût provoque le gonflement des asques et le début du bourgeonnement, puis son transport sur plâtre, dans des conditions d'inanition, déclenche une sporulation immédiate (Voir fig. 24). Il se produit un raccourcissement du cycle évolutif dont les deux stades extrêmes apparaissent placés côte à côte. Les ascospores gonflées et les premières cellules résultant du bourgeonnement se transforment aussitôt en asques. Or, l'étude de ce développement raccourci nous a permis de constater que tout le cycle de la Levure s'accomplit sans sexualité : il y a donc parthénogénèse.

D'autre part, cette race de *Saccharomyces*, après sporulation sur gélose de Gorodkova, montra un dimorphisme très accentué dans la grosseur des ascospores. Nous avons déjà signalé ce phénomène au chapitre de la sporulation. Les unes, de petite taille mesurent environ  $2,5\ \mu$ , les autres plus grosses, mesurent environ  $4,5\ \mu$ . Nous avons procédé à des mensurations d'ascospores obtenues par raccourcissement du cycle de développement dans les conditions précédentes. En général l'asque ne renferme qu'une ou deux ascospores et elles sont petites. Néanmoins la règle n'est pas absolue et l'on en rencontre qui mesurent  $4,5\ \mu$ . La parthénogénèse paraît

être responsable du dimorphisme constaté dans la grosseur des ascospores.

Deux autres *Saccharomyces* isolés, l'un du vin de Mont, l'autre du Muscadet nantais, nous ont fournis des exemples de parthénogénèse aussi nets. Dans le premier, quelques conjugaisons se forment encore, soit entre les ascospores deux à deux soit entre les premières

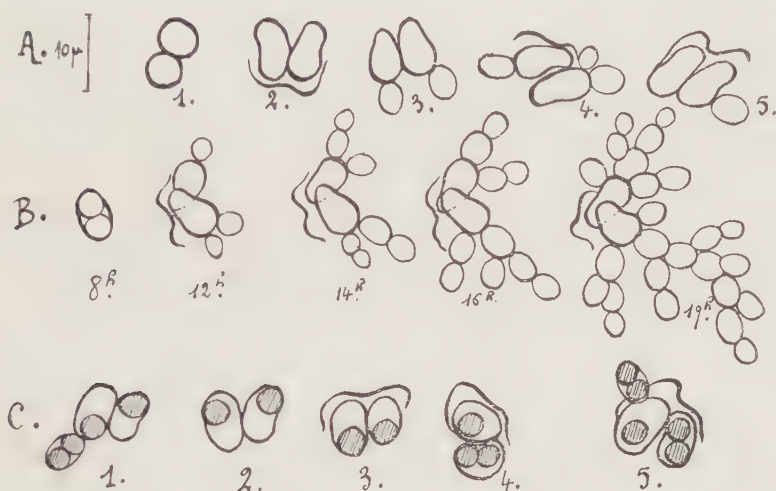


Fig. 24. — Phénomènes de Parthénogénèse chez le *S. ellipsoideus* Vouvray 1936 N° 2.

A. 1 à 5 : déhiscence de divers asques au début de la germination.

B. Germination parthénogénétique d'ascospores, sur goutte pendant de moût gélosé en chambre de Van Tieghem et Le Monnier.

C. 1 à 5 : sporulation de cellules parthénogénétiques ; des ascospores se sont gonflées et ont émis des bourgeons pendant un séjour de 12 heures sur moût de bière. L'ensemble est porté sur plâtre; ascospores et bourgeons se transforment en asques.

cellules provenant du bourgeonnement direct, mais dans le second, déjà signalé au début de ce chapitre, la sexualité semble avoir complètement disparu.

Dans le genre *Saccharomyces*, il existe donc des races où la parthénogénèse prédomine de beaucoup et d'autres où elle est complètement installée (1).

(1) GUILLIERMOND a signalé, en 1904, un cas de parthénogénèse totale sur une souche de *Saccharomyces Ludwigi*.

A la suite de nos recherches sur la parthénogénèse, nous écrivions en 1937 [67, d) : « Il est possible que l'on trouve un jour d'autres races, chez lesquelles il reste encore des vestiges de la sexualité disparue, se traduisant par des essais infructueux d'union entre les ascospores ou entre les cellules haploïdes issues du bourgeonnement direct, comme il en existe dans certaines espèces de *Zygosaccharomyces* devenues parthénogénétiques. Mais jusqu'ici, nous n'avons jamais rencontré de telles formes »... Quelques mois plus tard, en étudiant des Levures isolées de divers levains chinois, FANG SIN-FANG [24] a décrit un cas très net de régression sexuelle se traduisant par des essais infructueux de copulation entre ascospores en voie de germination.

*Anomalie de la sexualité due à un état dicaryotique de la zygospore.* — La race de *S. Pouilly-ordinaire* n° 5, par certaines anomalies de sa sexualité, présente un intérêt spécial.

Les ascospores ensemencées en chambre humide de Van Tieghem et Le Monnier peuvent se fusionner, deux à deux, et former ainsi des zygospores qui bourgeonnent en produisant des cellules diploïdes, mais le plus souvent elles germent isolément : de petites cellules haploïdes apparaissent. Ce sont celles-ci qui se conjuguent en formant des zygospores aux dépens desquelles naissent des cellules diploïdes. Les cellules haploïdes issues des ascospores germant isolément ne sont pas toujours en nombre pair. Lorsque les conjugaisons se produisent, il en reste qui ne peuvent se fusionner faute de partenaire et vont continuer leur bourgeonnement haploïde. Supposons pour fixer les idées qu'une ascospore ait donné naissance à trois cellules haploïdes *a*, *b*, *c* et que la conjugaison s'opère entre *a* et *b* ; il reste une cellule haploïde *c*. Souvent cette dernière produit deux bourgeons *d* et *e*, avant que ne survienne une nouvelle copulation. Si celle-ci se fait entre *d* et *c*, il reste encore une cellule *e* qui pourra se comporter comme précédemment la cellule *c* et continuer le phénomène. Parfois, il arrive que le milieu de culture soit épuisé avant que les zygospores aient cessé de se former. Dans ces conditions, l'état de la culture est le suivant : les premières zygospores apparues ont produit des cellules diploïdes qui sporulent ; les dernières zygospores n'ont pas encore bourgeonné, mais si la fusion nucléaire s'est réalisée, elles se transforment en asques, exactement

comme les cellules diploïdes précédentes; enfin il reste dans la culture quelques cellules haploïdes telles que la cellule *e* qui, après repiquage sur un milieu jeune, vont se fusionner.

Le développement de cette Levure, assez délicat à suivre, n'offre, cependant, jusqu'ici, rien d'anormal et ressemble un peu à celui du *S. paradoxus* que GUILLIERMOND [29, n] a décrit récemment.

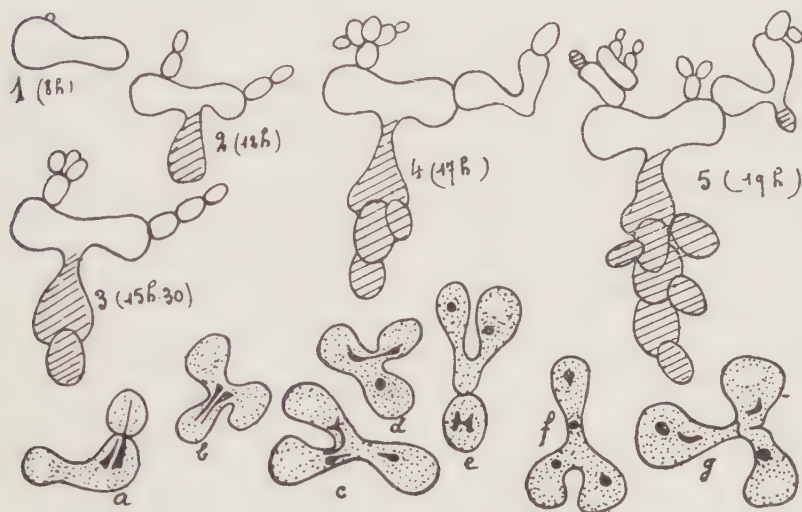


Fig. 25. — Développement d'une zygospore en goutte pendante. 1. Une petite cellule haploïde est en voie de formation; 2 et 3, de nouvelles cellules haploïdes se forment, tandis que, sur le côté opposé, apparaissent de grosses cellules diploïdes (figurées en hachures); 4 et 5, des cellules haploïdes se conjuguent et les cellules diploïdes croissent rapidement; a à g zygospores en voie de formation, fixées au picroformol et colorées à l'hématoxyline ferrique, montrant un dicaryon.

Mais si, en chambre humide, on suit la germination d'un grand nombre de zygospores, on constate des anomalies très rares mais très curieuses. Certaines zygospores bourgeonnent aussitôt et forment d'abord de petites cellules haploïdes et se comportant comme telles, puis apparaissent d'autres cellules plus grosses qui sont diploïdes (Voir fig. 25).

Les premières se conjuguent entre elles, produisent de nouvelles zygospores qui bourgeonnent en donnant des cellules diploïdes

tandis que les secondes continuent leur bourgeonnement diploïde qui se terminera par la formation d'asques. Le phénomène est très rare et ne peut être observé que si l'on suit la germination d'un grand nombre de zygospores.

L'étude cytologique de la formation des zygospores va nous donner l'explication de ce résultat, en apparence paradoxal. Dans certaines races de *Saccharomyces*, comme le *S. Johannisbergensis* II et le *S. paradoxus*, la formation des zygospores n'est pas toujours accompagnée de caryogamie. Parfois celle-ci ne se produit que plus tardivement, précédant ainsi, immédiatement, la division nucléaire. Ces faits ont été mis en évidence par GUILLIERMOND [29, h], dès 1911. Il arrive ainsi que les deux noyaux de la zygospore restent à l'état de dicaryon et se divisent simultanément pour envoyer deux noyaux-fils dans le bourgeon : c'est alors dans ce dernier qu'ils se fusionnent. Il y a une ébauche de dicaryon, comme il s'en produit chez les Ascomycètes supérieurs. Or, l'examen des zygospores de la Levure *S. Pouilly-ordinaire* N° 5, après fixation au picroformol et coloration à l'hématoxyline ferrique, nous a permis de retrouver, sur quelques-unes d'entre elles, cette tendance à la formation d'un dicaryon. Dès lors, on doit admettre que les zygospores dicaryotiques transportées sur un milieu frais, à un moment où leurs deux noyaux haploïdes ne sont pas encore fusionnés, peuvent donner naissance d'abord, par suite des conditions nouvelles du milieu, à de petites cellules haploïdes qui proviennent de la division de ces noyaux et sont capables de se conjuguer. La caryogamie se produit ensuite dans la première zygospore et les cellules diploïdes apparaissent. L'étude cytologique, montre en effet des zygospores où les noyaux ne sont pas encore fusionnés et se divisent isolément en se dirigeant vers les cellules-filles en voie de formation. Cette dissociation du dicaryon de certaines zygospores dicaryotiques placées dans des conditions particulières apparente la race de *S. Pouilly-ordinaire* N° 5 aux Exoascées du type *Taphrina epiphylla*.

*Mise en évidence d'un véritable dicaryon dans un Saccharomyces isolé du vin.* — L'étude cytologique des zygospores de divers *Saccharomyces* isolés du vin nous a permis de mettre en évidence la présence d'une phase dicaryotique, au début de la diplophase, dans la race de *S. Quincy* N° 6.

Cette race, par ses caractères morphologiques et sexuels montre, une étroite parenté avec la race de *S. ellipsoideus* d'HANSEN. Toutefois la multiplication cellulaire est un peu particulière. En général, au cours du bourgeonnement, les cellules-filles restent accolées aux cellules initiales suivant le mode de bourgeonnement habituel, mais parfois elles s'en écartent en restant en liaison par un isthme étroit et assez long, surtout visible sur les préparations cytologiques. La sporulation est abondante sur milieu de Gorodkowa à la température de 25°. Les asques renferment des ascospores rondes au nombre de 1, 2, 3, 4 par asque et leur taille, en général, est de 3,5  $\mu$ . Les ascospores germent très vite sur moût gélosé et, en chambre de Van Tieghem et Le Monnier, montrent les phénomènes sexuels habituels.

Mais l'intérêt remarquable de ce *S. ellipsoideus* réside surtout dans les phénomènes cytologiques qui accompagnent cette sexualité. Après fixation au picroformol et coloration à l'hématoxyline ferrique, on constate que, pour un grand nombre de zygospores, la caryogamie ne se réalise pas immédiatement après la fusion cellulaire. Les deux noyaux s'assemblent pour former un dicaryon puis se divisent, simultanément, en direction du premier bourgeon en voie de croissance par une sorte de mitose conjuguée, dont nous étudierons un peu plus loin les détails. (Voir fig. 26).

Lorsque le dicaryon du premier bourgeon est formé, le plus souvent, les deux noyaux se fusionnent. Mais, parfois, la caryogamie n'a pas lieu et le dicaryon paraît nettement individualisé. On trouvera, à la fin de notre travail, deux remarquables photographies qui illustrent ces résultats. (Voir Pl. VII, photos 1 et 2).

Dans d'autres cas, le dicaryon peut s'étendre à la deuxième cellule ainsi qu'à la troisième et, assez souvent, dans les préparations cytologiques, nous avons observé des chaînes de deux ou trois cellules binuclées. Il est plus rare d'observer, à la fois, sur une même chaîne, les cellules dicaryotiques et la zygospore qui leur a donné naissance car, au moment de l'étalement sur lame, la fragmentation de la culture est presque inévitable. Nous avons, néanmoins, réussi à obtenir une zygospore réunie à une chaîne de deux cellules-filles dicaryotiques. La tendance à la formation d'un dicaryon, caractérisée par la présence de zygospores dicaryotiques, semble assez fréquente chez les Levures du genre *Saccharomyces*. Nous l'avons

rencontrée dans la Levure de *S. Pouilly-ordinaire* N° 5, elle avait déjà été signalée par GUILLIERMOND sur la Levure de Johannisberg II et sur le *S. paradoxus*. Toutefois, la présence d'un dicaryon nettement installé dans les cellules de la diplophase n'avait jamais été décrite et nos résultats prennent un intérêt particulier, lorsqu'on les rapproche de ceux obtenus, par Mlle WIEBEN [84], sur les Exoascées du type *Taphrina epiphylla*. Nous avons vu que le



Fig. 26. — A. Zygospore dicaryotique — Division du dicaryon vers la première cellule-fille en formation.  
 B. Zygospore dicaryotique et dicaryon nettement individualisé sur les deux cellules-filles.  
 C. Zygospore dicaryotique réunie à une chaîne de deux cellules-filles à dicaryon.

cycle de développement des Levures du genre *Saccharomyces* présentait de grandes analogies avec celui de ces champignons. Toutefois, les zygospores de *Taphrina epiphylla* donnent toujours naissance à un mycélium dicaryotique, tandis que pour les *Saccharomyces* actuellement connus, la phase dicaryotique est toujours réduite à la zygospore. La seule différence vraiment notable apparaît donc dans la confrontation des diplophases. Mais cette différence s'atténue beaucoup avec la race de *S. Quincy* N° 6. La présence de zygospores produisant des générations de cellules dicaryotiques au début de la diplophase, rend les cycles de développement tout à fait homologuables et l'hypothèse de GUILLIERMOND, relative au rapprochement des Levures du genre *Saccharomyces* et des Exoascées reçoit, par ces résultats, une confirmation complète.

A la suite de nos recherches sur la sexualité, nous voyons que :

a) Les races de Levures qui composent la microflore du vin forment un groupe extrêmement homogène au point de vue de la sexualité. A l'exception de quelques-unes, chez lesquelles nous avons montré que la parthénogénèse était totalement installée, toutes les autres présentent les mêmes phénomènes sexuels. Les ascospores en germant se conjuguent deux à deux ou bourgeonnent isolément, en produisant de petites cellules qui se fusionnent, bientôt, deux à deux. Les zygosporos provenant de cette union sont identiques à celles que forment les ascospores en copulant.

Ce mode de sexualité en raison de sa généralité mérite d'être considéré comme un des caractères fondamentaux des Levures du vin.

b) Toutes les Levures de vin sont homothalliques.

c) Les ascospores de races différentes peuvent également se conjuguer deux à deux, exactement comme si elles dérivait d'un même asque et appartenaient par conséquent à une même race. De cette union, une race hybride apparaît. Grâce au micromanipulateur, de nouvelles races peuvent donc être créées, expérimentalement, sous le microscope.

d) La présence de zygosporos dicaryotiques montre une tendance à la formation du dicaryon chez certaines races de *Saccharomyces*.

Dans la race de *S. Quincy* N° 6, nous avons rencontré un véritable dicaryon, nettement installé dans les premières cellules de la diplophase et ce résultat apporte une confirmation à l'hypothèse de GUILLIERMOND sur le rapprochement des Levures du genre *Saccharomyces* et des Exoascées du type *Taphrina epiphylla*.

**La division du noyau chez les Levures au cours du bourgeonnement. Mise en évidence d'un centrosome et de la mitose.**

On sait que le noyau des Levures a été mis en évidence par GUILLIERMOND [29, a] en 1901. Cet auteur a montré que sa structure était analogue à celle des noyaux ordinaires rencontrés chez les autres Champignons et, notamment, les Ascomycètes supé-

rieurs. Depuis cette époque, de nombreux cytologistes ont cherché à préciser son mode de division pendant le bourgeonnement; presque tous ont admis que cette division s'effectue par un processus d'amitose et si l'idée d'une mitose a été soutenue par quelques auteurs, comme SWELLENGREBEL [82] 1905, FUHRMANN [26] 1906, MAC KÄTER [46] 1927, aucun d'eux n'a apporté de preuves acceptables en faveur de cette opinion. GUILLIERMOND a admis que, lors de la sporulation, le noyau se divise toujours par une mitose et, dès 1914, dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus*, il a décrit une mitose comparable à celle des Ascomycètes supérieurs et qu'il a retrouvée, plus tard, dans l'asque d'une autre Levure : *Nematospora Corylii* (1). Le problème de la division nucléaire au cours du bourgeonnement a été récemment remis à l'ordre du jour par GUILLIERMOND [29, n], d'une part, en 1936 et BADIAN [2], d'autre part, en 1937. En étudiant le bourgeonnement du *S. paradoxus*, le premier a observé des figures qui l'amènent à admettre que cette division s'effectuerait par une mitose comparable à celle des Ustilaginales. BADIAN, par contre, a décrit des phénomènes très différents. Pour cet auteur, le noyau des Levures aurait une structure très primitive, il serait dépourvu de membrane et constitué seulement par deux chromosomes qui se diviseraient longitudinalement pendant la mitose.

Notre étude a porté sur plusieurs races de *Saccharomyces* isolés du vin et plus particulièrement sur la race de *S. Quincy* N° 6, car, sur elle, nous suivions en même temps les phénomènes cytologiques de la sexualité décrits plus haut. Nous avons essayé la plupart des fixateurs usuels, mais, sur ce matériel, c'est la fixation au picroformol avec coloration à l'hématoxyline ferrique qui nous a donné les meilleurs résultats. La réaction nucléaire de FEULGEN, qui a permis des recherches si intéressantes sur le noyau des autres végétaux et particulièrement les végétaux supérieurs, ne semble pas convenir pour l'étude de la mitose sur un matériel aussi petit que les Levures. En tout cas, elle donne des figures beaucoup moins claires que celles que nous avons obtenues par la méthode précédente. Nos fixations ont été faites sur des cellules jeunes ayant un cytoplasme dense et de petites vacuoles. Cette précaution,

(1) Ces résultats ont été retrouvés, récemment, par Mlle MANUEL (48, c).

comme l'a fait remarquer GUILLIERMOND [29, d] est nécessaire pour avoir de bons résultats dans la cytologie des Levures.

Les noyaux au repos sont assez rares dans les cultures jeunes bourgeonnant activement. Mais, néanmoins, pour obtenir le maximum de divisions au moment de la fixation, nous procédions de la manière suivante. La culture était d'abord rajeunie par séjour de 18 heures sur moût liquide à la température du laboratoire (16 à 18°) puis, placée à l'étude à 25°, pendant une demi-heure.

Les noyaux au repos montrent une structure identique à celle qui a déjà été décrite par GUILLIERMOND. De forme sphérique, ils sont limités extérieurement par une membrane colorable et renferment un nucléoplasme achromatique dans lequel se distinguent un nucléole et de la chromatine disposée en un fin réseau, montrant, par places, de petits granules chromatiques. Parfois, cette chromatine est surtout disposée au voisinage de la membrane nucléaire. Au début du bourgeonnement, dans la zone nucléaire située en face du bourgeon, on distingue un centrosome extrêmement net, qui apparaît sous forme d'un petit grain coloré et entouré d'une plage claire (fig. 27,2). Le réseau chromatique est localisé en arrière du centrosome, le plus souvent au voisinage du nucléole plus ou moins confondu avec les mailles du réseau. Dans certains cas cependant, le nucléole et le réseau chromatique sont localisés dans des régions nucléaires nettement distinctes (fig. 27,3). A un stade plus avancé, le noyau prend une forme plus elliptique, il fait hernie dans la direction du bourgeon et le centrosome se divise. L'un des deux centrosomes résultant de cette division reste dans la cellule où il devient difficile à reconnaître, tandis que le second émigre vers le bourgeon à la base duquel il apparaît, toujours sous forme d'un grain coloré, entouré d'une auréole claire. Parfois, il est possible d'apercevoir un filament qui le relie au noyau en traversant l'isthme de communication de la cellule et de son bourgeon (fig. 27,3). Un peu plus tard, les chromosomes se forment aux dépens du réseau chromatique et se répartissent au voisinage de la membrane (fig. 27,4). Assez fréquemment, et particulièrement dans les préparations insuffisamment différenciées, ils paraissent agglomérés sur un côté de noyau en présentant l'aspect d'un bloc confus, en forme de croissant. A ces différents stades, que nous considérons comme se rattachant à la prophase, en succède un autre qui correspond à la

métaphase : la membrane nucléaire se résorbe et le fuseau achromatique apparaît (fig. 27, 5 et 6). Parfois le fuseau a une pointe plus accusée dans le sens du bourgeon et, de ce fait, il affecte une forme conique, qui semble traduire une sorte d'attraction se manifestant, en direction du bourgeon, dès que la membrane nucléaire a disparu. Ensuite, les chromosomes, souvent agglomérés en masse au milieu du fuseau, se divisent et forment quatre agrégats, groupés par deux de part et d'autre du plan équatorial (fig. 27, 7 et 9). Dans les cellules allongées en forme de saucisse, on remarque des figures d'anaphase très étalées (fig. 27, 10), analogues à celles que MAIRE [47] a décrites chez les Basidiomycètes. Dans ce cas, les chromosomes sont mieux individualisés et leur nombre apparaît nettement supérieur à 4.

Par suite du bourgeonnement, les figures de mitoses que nous décrivons sont sensiblement différentes de celles rencontrées par GUILLIERMOND, dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus*. Beaucoup de figures d'anaphases sont, notamment, déformées par le passage des groupes de chromosomes à travers l'isthme étroit qui fait communiquer le bourgeon avec la cellule initiale. Les figures 27-11, 27-12, 27-13 représentent des télophases dans lesquelles l'un des centrosomes est encore très apparent. Enfin la figure 27-14, montre les deux noyaux résultant de la division venant de se reconstituer. Dans beaucoup de cas, le nucléole disparaît dès la métaphase, mais parfois, on le retrouve accolé au fuseau, à un stade plus avancé de la mitose (fig. 27, 13). Les figures de cette mitose étant très petites et les chromosomes se trouvant souvent réunis en agrégats confus il semble impossible de songer à compter leur nombre avec certitude. Toutefois, dans la race de *Saccharomyces* en question, celui-ci est au moins égal à 8 (fig. 27,4).

Nos recherches ne nous permettent donc pas de confirmer celles de BADIAN. Elles prouvent que la structure du noyau des Levures est identique à celle des noyaux des Ascomycètes supérieurs. Elles nous amènent bien à constater que ce noyau se divise par une mitose. Mais les phénomènes observés n'ont rien de comparable à ceux décrits par BADIAN. Au contraire, ils prouvent que les conclusions de cet auteur sont erronées. La mitose que nous avons décrite ressemble assez aux mitoses des autres Ascomycètes, ainsi qu'à celles observées par YEN [89] chez les Ustilaginales.

Diverses phases de la mitose au cours du bourgeonnement des Levures.

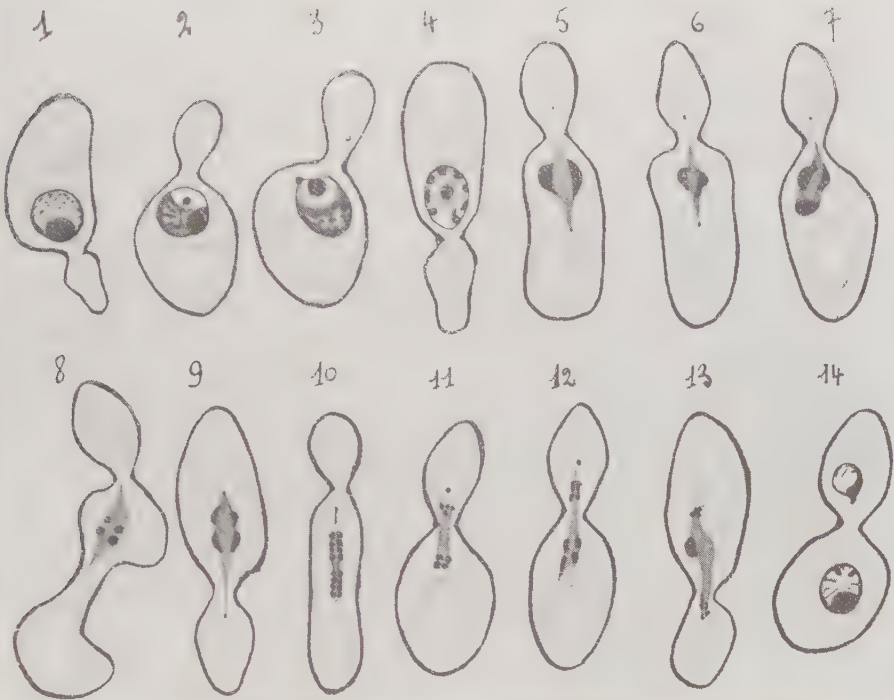


Fig. 27. — 1. Structure du noyau au repos. On remarque, nettement visibles, la membrane externe et le nucléole.

2. Début de la prophase. Un centrosome apparaît dans l'aire claire en face le bourgeon. En arrière, on remarque le réseau chromatique et le nucléole entre les mailles du réseau

3. Stade plus avancé de la prophase. Le centrosome s'est divisé, l'un des deux résultant de cette division est passé dans le bourgeon, il est relié du noyau par un filament, l'autre apparaît en haut sur le côté gauche. Nucléole et réseau chromatique sont situés dans des territoires différents.

4. Fin de la prophase. Le noyau est devenu elliptique, les chromosomes sont individualisés, le nucléole est encore visible au milieu.

5. 6. 7. Métaphases. Les chromosomes sont restés en agrégats confus de chaque côté du fuseau sur le plan équatorial. Les centrosomes sont très nets, dans la figure 7 le fuseau a une forme conique, à la base on remarque le nucléole qui a persisté.

8. 9. Anaphases. Les chromosomes se sont divisés, mais sont restés en agrégats et constituent 4 masses (2 de chaque côté du plan équatorial). La figure 8 représente une anaphase dans une zygospore.

10. Fin d'anaphases. Dans une cellule allongée en forme de saucisse. Les chromosomes sont mieux individualisés que dans les figures précédentes; remarquer le centrosome en direction du bourgeon.

11. 12. 13. Télaphases. Sur la figure 13 remarquer le nucléole qui a persisté le long du fuseau achromatique.

14. Les deux noyaux, provenant de la division, sont maintenant formés.

Enfin, au cours de cette étude, nous avons nettement mis en évidence l'existence d'un centrosome.

### Remarques sur les caractères biochimiques des Levures du vin.

*La fermentation des principaux sucres.* — L'étude des caractères biochimiques, comme celle des phénomènes sexuels, met en évidence les analogies étroites existant entre toutes les races de Levure isolées du vin.

Toutes, sans distinction, font fermenter activement le glucose, le fructose et le mannose. Toutes également font fermenter le saccharose après un temps de latence d'environ 24 heures. Seule la race de *S. Pouilly-ordinaire* N° 1 attaque ce dernier sucre avec plus de difficultés. Dans ce cas particulier, la fermentation ne se déclare qu'au bout de 40 heures en chambre de Van Tieghem, et au bout de 4 jours en tube de STRUYCK. STEINER [79] a isolé des vins suisses et décrit sous le nom de *S. Rouxii* une race de *Saccharomyces* qu'il considérait comme dépourvue d'invertase. Mais Mme STELLING-DEKKER [80] a repris l'étude de cette Levure et obtenu des résultats différents : la fermentation du saccharose serait faible mais nette. Le *S. Rouxii* se comporte sensiblement comme le *S. Pouilly-ordinaire* N° 1. Toutes les Levures du vin renferment donc de l'invertase. Elles font également toutes fermenter le maltose. A la température de 18°, en chambre de Van Tieghem, le temps de latence est d'une vingtaine d'heures pour les plus actives. La fermentation débute tardivement avec les *S.* type *pastorianus* N°s 1 et 2 isolés du vin de Sauvignon. Les premières bulles de gaz carbonique n'apparaissent qu'au bout de 36 heures pour le premier et au bout de 40 pour le second.

La fermentation du raffinose se produit également dans tous les cas, mais elle est toujours faible et limitée. Elle se décèle beaucoup plus facilement par la méthode de la chambre de Van Tieghem que par celle du tube de Struyck. Seules, les races *S. Bourgueil* N° 2 et Sauvignon N° 1 attaquent ce sucre avec plus de difficultés. A la température du laboratoire, le temps de latence était de 30 heures pour la première et de 40 heures pour la seconde. Aucune race ne fait fermenter le lactose. La fermentation du galactose est toujours

TABLEAU REPRODUISANT LES DIFFÉRENTS DEGRÉS ALCOOLIQUES DÉTERMINÉS A L'AIDE DE L'ÉBULLISCOPE MALLIGAND

| DÉSIGNATION DES RACES                                              | DEGRÉ ALCOOLIQUE<br>DU VIN PRODUIT                                                  | DÉSIGNATION DES RACES                                           | DEGRÉ ALCOOLIQUE<br>DU VIN PRODUIT                         |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| S. QUINCY N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.<br>N° 6.       | 13°, 8<br>14°, 5<br>14°, 5<br>14°, 6<br>15°<br>14°, 2                               | S. GRIS-MEUNIER N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.<br>N° 6.       | 13°, 3<br>12°, 1<br>13°, 8<br>10°, 5<br>12°, 4             |
| S. SAUVIGNON N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.                      | 10°, 4<br>10°, 9<br>13°, 75<br>12°, 6                                               | S. VOUVRA Y-BARRE 1935 N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.                  | 14°, 7<br>14°, 8<br>14°, 8                                 |
| S. POUILLY-ORDINAIRE N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.     | 14°, 25<br>14°<br>14°, 5<br>13°, 25<br>14°                                          | S. VOUVRA Y-BOURG 1935 N° 1.<br>N° 2.                           | 11°<br>13°, 1                                              |
| S. POUILLY-FUMÉ N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.<br>N° 6. | 12°, 9<br>13°, 2<br>12°, 6<br>14°, 2<br>12°, 6<br>12°, 7                            | S. VOUVRA Y-BARRE 1936 N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.                  | 12°, 5<br>12°, 25<br>14°, 6                                |
| S. MONT N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.<br>N° 6.         | 13°, 1<br>14°, 2<br>13°, 6<br>13°, 9<br>13°, 5<br>13°, 1<br>14°<br>13°, 8<br>12°, 6 | S. SAUMUR N° 1.<br>N° 2.                                        | 12°, 25<br>11°, 25                                         |
| S. GRIS-MEUNIER N° 1.                                              | 14°                                                                                 | S. ANJOU N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.              | 12°, 1<br>13°, 4<br>13°, 75<br>12°, 4<br>12°, 6            |
|                                                                    |                                                                                     | S. MUSCADET NANTAIS N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.   | 10°, 5<br>10°, 9<br>12°, 25<br>10°, 5<br>12°, 6            |
|                                                                    |                                                                                     | S. BOURGUEIL N° 1.<br>N° 2.<br>N° 3.<br>N° 4.<br>N° 5.<br>N° 6. | 12°, 25<br>12°, 3<br>12°, 5<br>13°, 3<br>12°, 7<br>12°, 25 |

beaucoup plus lente que celle des autres monoses (glucose, fructose, mannose). Un temps de latence d'au moins 30 heures s'écoule toujours avant qu'elle ne commence. Les cultures des races *S. Pouilly-Fumé* N° 5 et *S. Saumur* N° 1 ne sont entrées en fermentation que 3 jours après l'ensemencement. Les cultures des races *S. Saumur* N° 2, *S. Vouvray-Barre* 1935 N° 1 et N° 3, *S. Quincy* N° 3 et *S. Muscadet nantais* N° 5, sont restées inactives pendant 4 ou 5 jours. Enfin, après 5 jours, la fermentation ne s'était pas encore déclarée dans les cultures des races *S. Vouvray-Barre* 1935 N° 2, *S. Vouvray-Barre* 1936 N° 1, *S. Sauvignon* N° 2, *S. Quincy* N°s 2 et 5 et *S. Muscadet nantais* N° 2.

Certaines races agissent donc plus lentement sur le galactose que sur les autres sucres étudiés précédemment mais, généralement, après un temps de latence assez long, la fermentation finit par se déclarer. Toutes les Levures qui composent la microflore des Levures du vin ont donc des caractères biochimiques sensiblement identiques. Cette ressemblance biochimique pourrait s'expliquer, dans une certaine mesure, par les récentes recherches de WINGE et LAUSTEN [86, c] sur les races hétérozygotiques. En croisant une race A, ayant par exemple la propriété de faire fermenter le maltose, avec une autre race B dépourvue de maltase, ces deux auteurs ont constaté que la race hybride C, résultant du croisement, avait la propriété de faire également fermenter le maltose et, d'une manière générale, ressemblait toujours à la race A. Vivant côte à côte les races de Levures de vin sont probablement hétérozygotiques et, d'après les résultats de WINGE et LAUSTEN, il est permis de penser qu'au cours des croisements leurs propriétés fermentatives se sont améliorées et uniformisées. Mais de toutes façons, sans aller plus avant dans ce domaine encore trop hypothétique, les faits que nous avons constatés montrent la grande homogénéité du groupe des Levures du vin.

*Propriétés alcooligènes ; pouvoir clarifiant des races.* — Toutes les races ont été ensemencées dans un jus de raisins, préparé à partir d'un moût concentré, renfermant de 850 à 875 gr. de sucres par litre et provenant de la cave coopérative de Boufarik (Algérie). Par addition d'eau, sous le contrôle du mustimètre SALLERON, la quantité de sucres par litre a été abaissée à 262 gr. Le jus obtenu

par cette dilution pouvait produire, après fermentation complète, un vin renfermant de 15 à 15°5 d'alcool. Il a été réparti dans des Erlenmeyer, à raison de 100 centimètres cubes par flacon, et pasteurisé pendant 15 minutes à 100°. Après ensemencement, la vinification s'est faite à la température du laboratoire (16°-18°).

Le « Vin fait », dans tous les cas, titrait au moins 10° d'alcool et presque toujours de 12 à 15°.

Presque toutes les races étudiées méritent donc d'être considérées, au point de vue de la fermentation, comme de bonnes Levures. Les expériences précédentes nous ont également permis de faire quelques remarques sur le pouvoir agglomérant des diverses races. Les Levures produisant des vins troubles sont inutilisables dans la vinification. L'étude du pouvoir agglomérant est donc pratiquement très importante. Le vin provenant des races *S. Mont* N° 7, *S. Vouvray-Barre* 1935 N° 3 *S. Vouvray-Bourg* N° 2, *S. Saumur* N° 2, s'éclaircit lentement. Il reste trouble dans le cas de *S. Mont* N° 4. Enfin, au cours de la fermentation, pour certaines races, les cellules nouvellement formées s'accumulent uniquement au fond de l'Erlenmeyer. Pour d'autres, une certaine partie d'entre elles se déposent sur les parois latérales. Les races *S. Pouilly-ordinaire* N° 2 et *S. Vouvray-Barre* 1936 N° 3 forment des dépôts compacts et adhérents au fond du flacon. Le vin surnageant peut alors être complètement transvasé sans perdre sa limpidité. Si, après décantation, on verse de l'eau dans les flacons, on constate que, dans les deux cas, les dépôts ne sont pas de même nature. Les cellules de la race *S. Pouilly-ordinaire* N° 2 restent accolées sur le verre. Celles de la race *S. Vouvray-Barre* 1936 N° 3 se désagrègent en flocons granuleux, gros comme des grains de sable. Nous considérons les deux races précédentes comme des Levures spéciales. Utilisé en champagnisation, le *S. Vouvray-Barre* 1936 N° 3 donnerait certainement des résultats intéressants.

Toutes les races précédentes se comportent d'une manière analogue, lorsqu'on les cultive dans de l'eau de Levures additionnée de 6% de fructose par exemple.

SCHÖNFELD [77] pense que le pouvoir agglomérant des espèces de Levures est influencé par la nature chimique du milieu de culture et, notamment, par sa teneur en phosphates; nos observations

montrent que, dans certains cas, cette propriété dépend aussi de la race.

### Remarques sur les colonies géantes obtenues sur moût gélatiné.

Les races de Levures de vin diffèrent surtout les unes des autres par les caractères de leurs colonies géantes obtenues sur moût gélatiné à 12% de gélatine. Toutes les photographies de colonies, reproduites à la fin de ce travail, correspondent à des cultures âgées d'un mois. En tenant compte des autres caractères morphologiques, elles nous ont permis de comparer, d'une part, les races une à une, et, d'autre part, les groupes de races d'un vin à un autre.

Nous avons toujours rencontré plusieurs sortes de colonies géantes dans un même vin. En fin de fermentation, la vinification s'accomplit donc toujours par un groupe de Levures distinctes et jamais par une seule.

Sur moût gélatiné, le *S. Muscadet* nantais N° 5 produit une colonie géante à contour régulier, à surface lisse et dépourvue d'ornements. Il peut être assimilé au *S. ellipsoideus* d'Hansen conservé au laboratoire de culture des champignons de Baarn (Hollande), car les autres caractères morphologiques de ces deux Levures sont également identiques.

Certaines races de *S. ellipsoideus*, très peu différentes des précédentes, sont très répandues et jouent vraisemblablement un rôle important dans la vinification. Nous les avons rencontrées dans les vins de Quincy (Race N° 5), de Pouilly-ordinaire (Race N° 5), Vouvray-Barre 1935 (Races N°s 1 et 3), Vouvray-Bourg 1935 (Race N° 1), Vouvray 1936 (Race N° 1), Gris-Meunier (Race N° 2) et Saumur (Race N° 1). Peut-être existent-elles également dans les autres et, dans ce cas, elles seraient passées inaperçues au cours des triages ? Elles diffèrent du *S. ellipsoideus* d'Hansen, souche Baarn, par la forme de leurs colonies géantes qui, au lieu de s'étaler, se dressent et prennent l'aspect d'un cône à pointe accusée.

Les *S. Quincy* N° 5, Vouvray-Barre 1935 N° 3, Vouvray 1936 N° 1, sont des races type *ellipsoideus* à cellules assez petites. Toutes font fermenter les principaux sucres de la même manière. Notamment, elles n'attaquent pas le galactose pendant les quatre premiers

jours qui suivent l'ensemencement. Elles ne forment pas de voile à la surface des milieux liquides après fermentation et peuvent produire des vins très riches en alcool. Leurs propriétés sexuelles sont identiques et aucune d'elles ne liquéfie la gélatine, après 80 jours de culture. Nous pensons donc que les *S. Quincy* N° 5, *Vouvray-Barre* 1935 N° 3 et *Vouvray* 1936 N° 1, ne représentent qu'une seule race rencontrée dans trois vins distincts. Elle serait plus répandue que le *S. ellipsoideus* d'Hansen.

Le *S. Pouilly-ordinaire* N° 5 n'en diffère que par des propriétés sexuelles un peu spéciales, déjà examinées au cours d'un précédent chapitre.

Les *S. Vouvray-Bourg* 1935 N° 1, *Saumur* N° 1, *Gris-Meunier* N° 2, appartiennent aussi au type *ellipsoideus* et ressemblent beaucoup aux précédentes. Mais leurs cellules sont un peu plus grosses et, d'autre part, elles font fermenter le galactose plus facilement. Enfin, les colonies géantes des *S. Vouvray-Bourg* 1935 N° 1 et *S. Saumur* N° 1 ont un aspect jaunâtre.

Les *S. Anjou* N° 4 et *Sauvignon* N° 3 ont également des colonies géantes sensiblement identiques et cette ressemblance s'étend aux autres caractères morphologiques. Elles font, notamment, fermenter le galactose assez facilement, après un temps de latence de 36 heures. On peut donc encore considérer que ces deux Levures ne représentent qu'une même race, rencontrée dans deux vins distincts.

Mais les comparaisons entre races provenant de vins différents s'arrêtent à ces quelques exemples. Quelques autres Levures ayant des colonies géantes identiques ne se prêtent pas à une comparaison complète de tous les autres caractères morphologiques. Les races *S. Mont* N° 8 et *S. Bourgueil* N° 6, par exemple, appartiennent toutes les deux au type *cerevisiae*. Elles ne diffèrent que par les dimensions moyennes de leurs cellules. Les races *S. Anjou* N° 5 et *S. Bourgueil* N° 4 ne se distinguent que par des détails du même genre.

Les races *S. Muscadet nantais* N° 3 et *S. Pouilly-Fumé* N° 1 montrent également beaucoup de caractères communs. Mais la première ne fait pas fermenter le galactose après 4 jours, tandis que la seconde l'attaque déjà au bout de 36 heures.

Les Levures isolées d'un même vin présentent souvent quelques caractères communs qu'il convient de souligner. Toutes les colonies géantes des races isolées du vin de *Sauvignon* semblent

recouvertes d'une fine poussière farineuse, visible sur les reproductions photographiques. Celles isolées des vins de Saumur sont uniformément colorées en jaune. Celles provenant du vin de Vouvray-Bourg 1935 également, mais leur couleur est différente de celle des précédentes. De plus, il y a souvent entre plusieurs colonies originaires d'un même vin, des analogies assez apparentes dans le mode d'ornementation. Il y a ressemblance, notamment, entre les colonies géantes :

- des *S. Pouilly-Fumé* N<sup>os</sup> 2, 3 et 4.
- des *S. Pouilly-Fumé* N<sup>os</sup> 1 et 5 ;
- des *S. Muscadet-nantais* N<sup>os</sup> 1, 2 et 3 ;
- des *S. Bourgueil* N<sup>os</sup> 2 et 6 ;
- des *S. Bourgueil* N<sup>os</sup> 2, 3 et 4 ;
- des *S. Pouilly-ordinaire* N<sup>os</sup> 1 et 5 ;
- des *S. Pouilly-ordinaire* N<sup>os</sup> 2, 3 et 4 ;
- des *S. Anjou* N<sup>os</sup> 2, 3 et 4.

Certaines races de *Saccharomyces* rencontrées dans des vins différents sont donc identiques, tant au point de vue de l'aspect de leurs colonies géantes que de leurs autres caractères morphologiques. Une d'entre elles, isolée à diverses reprises, semble très répandue et joue probablement un rôle important dans la vinification. Mais de telles races sont rares et presque toutes les Levures étudiées n'ont été trouvées qu'une seule fois. Par contre, toutes celles originaires d'un même vin ont souvent des caractères communs, traduisant vraisemblablement une adaptation au milieu. Dans son ensemble, la microflore de Levures de chaque vin apparaît donc assez spéciale.

### **La microflore des Levures du vin. Son rôle dans la vinification.**

*Principaux caractères des races.* — Les résultats précédents vont nous permettre d'analyser, maintenant, les principaux caractères morphologiques, biologiques et physiologiques des Levures du vin. Nous avons isolé soixante-deux races de Levures des différents vins du Val-de-Loire (Quincy, Sauvignon, Pouilly-sur-Loire,

Gris-Meunier, Mont, Vouvray, Bourgueil, Saumur, Anjou, Muscadet nantais). Elles présentent toutes les mêmes phénomènes sexuels et des propriétés biochimiques sensiblement identiques. Il existe donc, entre elles, des liens de parenté remarquables, qu'il convient de souligner en premier lieu. Aucune d'entre elles n'a pu être rapportée au genre *Zygosaccharomyces*. Dans toutes, à l'exception d'une seule, nous avons toujours obtenu des asques sur gélose de Gorodkowa, ou sur bloc de plâtre. Les ascospores sphériques, au nombre de 2, 3, 4 par asque, mesurent en moyenne de 3 à 4  $\mu$ . Au moment de la germination elles se conjuguent deux à deux, directement, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes qui se fusionnent bientôt, deux à deux. Les zygotes, formées par conjugaison d'ascospores ou de cellules haploïdes, germent en donnant des cellules diploïdes qui, après s'être multipliées abondamment, finissent par former des asques. Tel est le cycle de développement observé sur toutes les Levures du vin, à l'exception de deux, chez lesquelles la parthénogénèse a été mise en évidence. Du point de vue biochimique, elles ont toutes produit une fermentation avec les sucres suivants : glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose, maltose, raffinose. L'action est très lente sur le galactose dans quelques cas. Elle est toujours faible avec le raffinose et le lactose n'est jamais attaqué. Les propriétés sexuelles et biochimiques permettent de rattacher toutes les espèces isolées au genre *Saccharomyces*.

Très ressemblantes, dans leurs caractères principaux, les Levures du vin se distinguent les unes des autres par leurs caractères secondaires. En étudiant la forme des cellules, nous les avons rangées en quatre types : les types *ellipsoideus*, *pastorianus*, *ellipsoideo-pastorianus* et *cerevisiae*. Les races type *cerevisiae* sont rares, celles des types *pastorianus* et *ellipsoideo-pastorianus* plus fréquentes. Mais celles du type *ellipsoideus* sont, de beaucoup, les plus répandues.

Après fermentation, dans des jus de raisins pasteurisés à 100°, quelques races produisent un vin qui reste trouble pendant un certain temps. Mais celui obtenu, avec toutes les autres, dans ces conditions, se clarifie rapidement. Suivant les races, les dépôts se forment, soit exclusivement au fond des flacons de culture, soit à la fois au fond et sur les parois. Deux Levures ont montré un pouvoir agglom-

mérant spécial et doivent être regardées comme précieuses pour la vinification ou la champagnisation. Le pouvoir alcoologène est toujours très accentué. Le vin obtenu avec cinquante-quatre races titrait 12 à 15° d'alcool ; avec les huit autres, le titre était compris entre 10 et 12°. Après fermentation sur moût de bière liquide, selon les races, le mode de végétation en surface est très varié. Certaines ne produisent jamais de voile ou d'anneau, d'autres forment un anneau plus ou moins adhérent sur la paroi du tube de culture. D'autres forment un voile mince, complet ou réparti en flots, d'autres un voile épais ayant une tendance à se déchirer et à tomber au sein du liquide fermenté. Les colonies en stries, sur moût gélifié, après 60 jours de culture révèlent également des différences notables d'une race à l'autre. Les unes sont vermiculées, d'autres granuleuses, d'autres lisses. Certaines ont une consistance pâteuse, les autres, sèche ou écailleuse. Enfin, certaines colonies sont franchement blanches et brillantes, d'autres grisâtres et d'autres jaunâtres. Sept races liquéfient la gélatine au bout de 80 jours de culture et les autres restent sans action, même après plusieurs mois de culture.

De même, les températures minima, optima et maxima du bourgeonnement et de la sporulation peuvent être différentes d'une race à l'autre. Une étude comparative, faite sur six races distinctes, nous a fourni, à ce sujet, les résultats reproduits dans le tableau ci-après.

Au point de vue du bourgeonnement, on remarque que la race *S. Sauvignon* N° 1 est nettement plus résistante au froid que toutes les autres. Certaines races isolées de jus de raisins conservés en chambre froide, par Mlle PORCHET [65], sont actives au voisinage de 0°. La race *S. Muscadet* N° 4, bourgeonne encore à 44°.

Entre 1 et 3°, la sporulation ne s'est produite dans aucune des six races en question. La race *S. Quincy* N° 2 ne sporule plus à 38-39°, tandis qu'à cette température, les races *S. Muscadet* N° 4, *S. Anjou* N° 3 et *S. Pouilly-Fumé* N° 1, ont formé quelques asques à 1 ou 2 ascospores. Les races *S. Sauvignon* N° 1 et *S. Bourgueil* N° 2, qui étaient sporogènes au début de nos recherches, ne sporulent plus aujourd'hui. Mais c'est surtout par l'aspect des colonies géantes, obtenues sur moût gélifié à 12%, que les différences d'une race à l'autre sont les plus apparentes. En tenant compte des autres caractères morphologiques, l'étude des photographies de ces colo-

| DÉSIGNATION<br>DES ESPÈCES     | BOURGEONNEMENT                                         |          |            | SPORULATION                                                        |                          |                                   |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------|----------|------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
|                                | MINIMA                                                 | OPTIMA   | MAXIMA     | MINIMA                                                             | OPTIMA                   | MAXIMA                            |
| S. SAUVIGNON N° 1.             | Colonie de 5 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 27 à 28° | 38 à 39°   | Pas de sporula-<br>tion.<br><i>La race est devenue asporogène.</i> | Pas de sporula-<br>tion. | Pas de sporula-<br>tion.          |
| S. QUINCY N° 2.                | Colonie de 1 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 31 à 32° | 41 à 42°   | Pas de sporula-<br>tion entre 1 et<br>5°.                          | 30°                      | Pas de sporula-<br>tion à 38-39°. |
| S. MUSCADET NAN-<br>TAIS N° 4. | Colonie de 3 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 33 à 34° | 44 à 45°   | Pas de sporula-<br>tion entre 1 et<br>3°.                          | 31-32°                   | Sporule à 38-39°                  |
| S. POUILLY-FUMÉ N° 1           | Colonie de 3 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 32 à 33° | 43 à 43° 5 | Pas de sporula-<br>tion entre 1 et<br>3°.                          | 30-31°                   | Sporule à 38-39°                  |
| S. BOURGUEIL N° 2.             | Colonie de 3 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 32 à 33° | 43 à 43° 5 | Pas de sporula-<br>tion.<br><i>La race est devenue asporogène.</i> | Pas de sporula-<br>tion. | Pas de sporula-<br>tion.          |
| S. ANJOU N° 3.                 | Colonie de 3 $\frac{m}{m}$<br>après un mois<br>à 1-3°. | 32 à 33° | 43 à 43° 5 | Pas de sporula-<br>tion entre 1 et<br>3°.                          | 30-31°                   | sporule à 38-39°                  |

nies nous a révélé qu'en fin de fermentation la vinification était toujours conduite par un groupe de Levures, composées de races de *S. ellipsoideus* presque toujours associées à des races de *S. cerevisiae* de *S. pastorianus* et *S. ellipsoideo-pastorianus*. Nous avons isolé un *S. ellipsoideus* analogue au *S. ellipsoideus* d'Hansen (Souche Baarn) et décrit une autre race presque identique rencontrée dans plusieurs vins différents. Mais une cinquantaine de *Saccharomyces* n'ont été trouvés qu'une seule fois et les tentatives d'identification des espèces provenant de vins différents sont généralement infructueuses. D'autre part, souvent, les colonies des Levures originaires d'un même vin s'apparentent par quelques caractères communs. Celles provenant d'un premier vin semblent recouvertes d'une fine poussière farineuse, celles d'un second ont une couleur franchement blanche, celles d'un troisième sont grisâtres et celles d'un quatrième ont un aspect jaunâtre. La microflore de Levures de chaque vin, sans différer, malgré tout, complètement de celle d'un autre vin, apparaît dans son ensemble assez spéciale.

L'originalité de la microflore des Levures de chaque vin, semble indiquer une adaptation des races à ce milieu, adaptation constatée depuis longtemps au point de vue physiologique et qui, dans une certaine mesure, semble s'accomplir selon un mécanisme biologique que de récents travaux ont mis en évidence. WINGE et LAUSTEN [86, b] ont montré que deux ascospores, provenant de deux *Saccharomyces* différents, germent dans une goutte de moût liquide et se conjuguent exactement comme si elles dérivait d'un même asque et par conséquent d'une même race. L'hétérozygote ainsi formée donne naissance à une nouvelle race hybride, qui, après isolement, se cultive comme une race ordinaire. Certaines races hybrides, ainsi obtenues au laboratoire de physiologie de CARLSBERG, sont déjà utilisées avantageusement dans la fermentation panaière. Nous avons signalé précédemment que les mêmes phénomènes pouvaient se produire dans les *Saccharomyces* isolés du vin. Une race hybride a été obtenue, sans difficultés par copulation entre le *S. Muscadet* nantais N° 4 et le *S. Pouilly-Fumé* N° 5. La création expérimentale de races hybrides de *Saccharomyces* prouve que, naturellement, des races nouvelles apparaissent, lorsque, dans un mélange de races, des ascospores germent côte à côte.

Très probablement, dans la concurrence vitale, les unes se développent activement tandis que d'autres sont appelées à disparaître.

La création de races hybrides semble avoir pour conséquence, d'une part, le renouvellement constant de la microflore des Levures et, d'autre part, l'installation, dans chaque vin, de races capables de s'adapter au milieu.

*Stabilité des races.* — Après avoir montré que la microflore des Levures du vin, sans être complètement spéciale, se composait, en grande partie, de races particulières, nous avons cherché à préciser leur degré de stabilité dans les conditions naturelles.

Les travaux classiques d'HANSEN [32, *g, h, i, l*] sur l'espèce et la variation chez les Levures ont mis en évidence l'apparition de mutants sur des races cultivées, pendant une période de temps assez longue, au voisinage de la température maximum compatible avec le bourgeonnement. L'apparition de mutants a, de même, été constatée au cours de recherches très étendues et plus récentes, faites par NADSON [57] utilisant les rayons X non filtrés, le bromure de radium, les émanations de radium dans les tubes capillaires de verre, par SCHOEN, LACASSAGNE et BÉRAUD [76] utilisant également l'action du rayonnement du radium dans des conditions expérimentales différentes des précédentes, par MEISSEL [53], utilisant le chloroforme, par KRASSILNIKOV [39] étudiant l'action de la température super-optima et par KONDRIATZEW et LANGE utilisant l'action du froid. Mais les conditions de presque toutes ces expériences, où le facteur mis en jeu agit brutalement, sont certainement différentes de celles qui se trouvent réalisées, naturellement, dans les moûts en fermentation. SCHOEN, LACASSAGNE et BÉRAUD, ont constaté que, placées en concurrence vitale avec les races naturelles, les radio-races, qu'ils avaient obtenues à partir d'une Levure de Chambertin, disparaissaient rapidement. Nous avons eu l'occasion d'étudier les radio-races, dérivant de la Levure de Chambertin, au point de vue morphologique(1). Aucune d'elles ne pouvait être comparée aux races naturelles que nous avons rencontrées dans les différents vins du Val de Loire. Dans les moûts de raisins en fermentation, le mécanisme de la variation est certaine-

(1) Observation inédite.

ment très complexe car de nombreuses causes d'ordre physique, chimique ou sexuel peuvent agir simultanément. Mais WINGE et LAUSTEN ont fait la preuve de l'existence de Levures hétérozygotiques. De plus, une race hybride de *Saccharomyces* a été obtenue, sans difficulté, à partir d'ascospores de deux races différentes provenant des vins du Val de Loire. Ces résultats semblent indiquer que la création des Levures mixtes, par croisement entre ascospores de races différentes, joue un rôle prépondérant dans l'évolution naturelle de la microflore des Levures du vin.

Mais, de toute façon, une question se pose : les races de Levures sont-elles éminemment variables ou présentent-elles, au contraire, un certain degré de stabilité ? HANSEN [32, 1] considérait les espèces comme relativement stables et écrivait : «... en y regardant de près, on trouve les Levures à peine plus variables que les végétaux supérieurs, mais leur génération se produit avec beaucoup plus de rapidité et, par suite, les phénomènes de variation apparaissent beaucoup plus vite »... Par contre, KONDRIATEWA a obtenu des mutants sur le *S. cerevisiae* par action du chlorure de calcium à la concentration de 0,01 molécule par 1.000 centimètres cubes. De même SAENKO a fait des observations analogues sur le *S. ellipsoideus* placé en concurrence vitale avec un *S. apiculatus*. Ces derniers résultats font penser à une très grande instabilité des races. Nous avons préparé un moût de bière gélosé additionné de chlorure de calcium, à raison de 0,01 molécule par litre et nous avons cultivé, comparativement, sur ce milieu et sur un même milieu non additionné de chlorure de calcium, deux souches d'une race de *S. ellipsoideus* sporogène et vigoureuse isolée du vin (*S. Muscadet* N° 4). Cherchant à nous rapprocher le plus possible des conditions naturelles, nous avons adopté un temps de culture de 15 jours. Ce temps correspond à la durée d'une fermentation normale pendant laquelle les Levures sont actives. Après 15 jours, la race étant très sporogène, les deux souches présentaient de nombreux asques. A l'aide du micromanipulateur de DE FONTBRUNE, sur le témoin et la souche traitée, nous avons trié une cellule non sporulée et des asques à 2 et 4 ascospores. Ces derniers ont été ensemencés pendant 24 heures, sur moût liquide, en chambre à huile. Ils ont germé en présentant les phénomènes sexuels habituels. A l'aide du micromanipulateur, nous avons trié, dans les deux cas, des zygosporos déri-

vant de copulations entre ascospores et d'autres provenant de copulations entre cellules haploïdes produites par bourgeonnement direct d'ascospores. Autrement dit, pour le témoin et la souche traitée, nous nous sommes efforcés d'obtenir des souches-filles provenant d'éléments en apparence différents rencontrés dans chaque culture. Nous avons ensuite confronté les différentes souches. Dans tous les cas, les caractères suivants : forme des cellules, vitesse de sporulation, proportion d'asques formés, phénomènes sexuels, propriétés biochimiques vis-à-vis des principaux sucres, pouvoir liquéfiant sur moût gélatiné, aspect des colonies géantes sur moût gélatiné à 12%, se sont montrés identiques.

Nos recherches ne nous ont donc pas permis de retrouver, sur cette espèce et dans les conditions adoptées, les résultats obtenus par KONDRIATEWA sur le *S. cerevisiae*.

En conclusion, nous pensons, avec HANSEN que, lorsque le facteur de variation agit faiblement, les caractères des races de Levures de vin restent stables (1).

### Le rôle des races dans la vinification

La microflore des Levures de chaque vin se composant de races particulières et relativement stables, qu'advient-il si l'on vinifie un certain moût de raisins par des races de Levures isolées d'un autre vin ? Est-il possible de communiquer au premier vin, par levurage, les caractères spécifiques du second ? L'intérêt de la question n'avait pas échappé à PASTEUR [63, b] qui, en 1876, dans son Traité sur la bière écrivait : «... On doit penser que si l'on soumettait un même moût de raisins à l'action de Levures distinctes, il en résulterait des vins de diverses natures... »

Beaucoup de viticulteurs ont tenté cette expérience séduisante en vinifiant, par exemple, des moûts de raisins rouges, de qualité moyenne ou médiocre avec des Levures de vins de Bourgogne ou de Bordeaux. Les résultats obtenus ont été très inconstants, car l'expérience est, pratiquement, assez difficile à mener à bonne fin. Il ne

(1) On trouvera l'analyse des travaux de MEISSEL, KRASSILNIKOV, KONDRIATEWA et LANGE, KONDRIATEWA, SAENKO, dans l'ouvrage de NADSON (57).

suffit pas, en effet, d'ajouter des Levures pures à un certain moût, pour en conclure qu'elles auront participé à la fermentation. Il existe déjà, dans le jus de raisins à vinifier, des Levures naturelles qui, mieux adaptées, ont toutes chances de supplanter les Levures préparées au laboratoire. Il est donc indispensable de stériliser au préalable le jus à traiter ; sinon le levurage sera sans effet. Pour cela, on peut songer à la Pasteurisation. En éliminant toutes les Bactéries, cette méthode aurait, en plus, l'immense avantage de supprimer toutes les causes de maladies secondaires, comme la piquûre, la tourne, la graisse, etc... Mais les viticulteurs hésitent à l'employer, car le chauffage des vendanges, en oxydant les matières tanoïdes fait apparaître des goûts particuliers qui persistent après la vinification. La stérilisation provisoire des moûts peut être réalisée à l'aide de l'anhydride sulfureux. Cet antiseptique est autorisé légalement. Malheureusement, son emploi est délicat en raison de son instabilité dans les moûts ou dans le vin fait. Introduit dans la vendange, il se transforme en sulfates, par oxydation lente et continue en présence des sels de calcium et de potassium présents dans le milieu. De plus, avec les corps aldéhydiques, il engendre des composés d'addition. Toute la fraction combinée n'est plus antiseptique. Il n'agit donc comme antiseptique que lorsque toutes les possibilités de combinaisons sont saturées. L'expérience montre qu'aux températures comprises entre 5 et 10°, une dose de 0,15 gr. par litre arrête la fermentation pendant une huitaine de jours. L'introduction d'anhydride sulfureux au moût de raisins fait surgir une nouvelle difficulté pour le levurage, car le milieu est devenu toxique pour les Levures expérimentales comme pour les Levures naturelles. Cet inconvénient exige une préparation préalable du levain. En ajoutant, au levain actif, des doses d'abord faibles d'anhydride sulfureux, puis progressivement de plus en plus fortes, les Levures acquièrent la propriété de réagir à l'antiseptique : elles s'accliment. Cette préparation demande une huitaine de jours. Les Levures peuvent s'accoutumer de même à beaucoup d'autres substances toxiques, comme le cuivre par exemple apporté par les bouillies anticryptogamiques. Dans les années humides, les invasions du mildiou exigent de nombreux traitements à la bouillie bordelaise et les jus de raisins renferment parfois des doses de cuivre capables d'arrêter la fermentation. Mais si l'on ajoute un levain acclimaté

au cuivre, la vinification se fera normalement et le métal sera insolubilisé progressivement à l'état de sulfure et précipité dans les lies. Les transformations subies par l'anhydride sulfureux dans les jus de raisins et les difficultés rencontrées dans la préparation de levains acclimatés sont deux causes responsables de beaucoup d'insuccès dans les expériences de levurage.

En suivant la technique précédente, nous avons pu réaliser dans de bonnes conditions des vinifications expérimentales. Le moût choisi provenait de raisins de Chasselas de Pouilly-sur-Loire (Nièvre) et les Levures utilisées avaient été isolées d'un vin de Pouilly-Fumé récolté l'année précédente. Nous cherchions à communiquer au vin de Chasselas, par levurage, les corps de bouquets de Pouilly-Fumé. La quantité de moût à vinifier étant divisée en quatre lots identiques, nous avons ensemencé les trois premiers par trois levains issus de trois races distinctes et le quatrième était traité par un polylevain composé des trois races précédentes réunies. Tous les levains avaient été préparés gracieusement par les soins du Service des fermentations de l'Institut Pasteur de Paris.

Nous avons ainsi obtenu un très bon vin, d'un goût très sensiblement différent de celui du Chasselas habituel, mais dont la qualité était très inférieure à celle d'un véritable « Pouilly-Fumé ». Il n'existait pas de différences appréciables entre les autres échantillons. Les races, considérées isolément ou prises en association, ont donc produit un vin identique.

A côté de ses caractères propres, dépendant du cépage et du terroir, un vin peut donc acquérir, par levurage, d'autres caractères rappelant le vin d'origine des Levures utilisées. Mais les corps de bouquet apportés par les Levures sont peu accusés et souvent masqués par le bouquet particulier du vin traité, surtout si ce dernier est très prononcé, ce qui est le cas dans les vins de qualité. Les essais précédents auraient été plus probants sur des moûts de raisins de qualité inférieure.

En principe, pour les vins de qualité, le levurage est donc une opération qui semble inutile. Commercialement, elle est certainement contre-indiquée, car, lorsqu'un vin de cru est connu et apprécié pour certains caractères, toutes les modifications apportées équivalent à une dépréciation. On pourrait peut-être aussi reprocher au

levurage de faire des vins d'un goût trop uniforme. Dans la vinification naturelle, les vins accusent, souvent, d'une cave à l'autre, des différences légères qui permettent à l'acheteur de choisir suivant son goût personnel : elles sont donc très précieuses pour la renommée d'un cru.

Mais, à côté des vins réputés, il en existe d'autres, de consommation courante, dont la qualité laisse parfois à désirer. Le goût et la santé de ces vins seraient certainement améliorés par l'utilisation de bonnes races de Levures dans la vinification.

---

## CONCLUSIONS

*Nos recherches montrent que :*

I. Les races de Levures rencontrées dans les vins, en fin de fermentation, sont très nombreuses. Soixante-deux ont été isolées des différents vins du Val de Loire. La première partie de ce travail est consacrée à l'étude de leurs caractères morphologiques, biologiques et cytologiques. Elle peut être considérée comme une monographie des Levures du vin. Les photographies de toutes les colonies géantes, obtenues sur moût gélatiné à 12%, illustrent cette monographie.

II. Toutes les races sont étroitement apparentées par leurs caractères principaux.

a) A l'exception de quelques Levures asporogènes, toutes les autres sporulent sur milieu de Gorodkowa ou sur bloc de plâtre et les asques formés renferment des ascospores de même forme et sensiblement de même taille.

b) Les ascospores, en germant, se conjuguent, deux à deux, pour former une zygospore, ou donnent naissance à de petites cellules haploïdes. Parfois l'une d'elles se fusionne avec l'ascospore-mère, mais, le plus souvent, elles copulent deux à deux, pour produire des zygospores identiques à celles qui résultent de l'union des ascospores. Les Levures du vin sont donc diplobiontiques mais présentent, assez fréquemment, une haplophase de quelques cellules qui va de la germination de l'ascospore jusqu'à la formation des zygospores.

c) Enfin, au point de vue qualitatif, elles possèdent toutes des propriétés biochimiques sensiblement identiques.

Toutes les Levures du vin appartiennent donc au genre *Saccharomyces* et sont *homothalliques*.

III. Ressemblantes dans leurs caractères principaux, les races diffèrent, par contre, par des caractères secondaires, tels que la forme de leurs cellules, la nature des dépôts qu'elles forment au fond des flacons après fermentation, leur pouvoir alcooligène, leur aptitude à liquéfier le moût gélatiné et surtout l'aspect des colonies géantes, obtenues sur moût gélatiné à 12%.

IV. Certaines races ont une tendance à former un dicaryon au début du bourgeonnement des zygosporos. Dans le *S. Quincy* N° 6, nous avons pu caractériser et photographier un dicaryon, nettement installé, dans les deux premières cellules de la diplophase. Ces résultats confirment l'hypothèse de GUILLIERMOND relative au rapprochement des Levures du genre *Saccharomyces* et des Exoascées du type *Taphrina epiphylla*.

V. Le noyau des Levures se divise par une mitose primitive, analogue, à celle des Ustilaginales. Nous avons pu en suivre tous les stades. De plus, nous avons mis en évidence, au cours de cette mitose, l'existence d'un centrosome extrêmement net.

VI. La microflore de Levure de chaque vin, se compose en grande partie de races spéciales et relativement stables dans les conditions naturelles. L'originalité de la microflore de Levure de chaque vin semble traduire une adaptation des races au vin d'origine.

VII. Des races hybrides peuvent être créées, expérimentalement, par croisement entre ascospores provenant de deux races différentes. Ces résultats obtenus par WINGE et LAUSTSEN sur des levures de la fermentation panaire, s'appliquent également aux races isolées du vin.

Nous pensons que l'installation de races spéciales dans chaque vin, se fait par le mécanisme de l'hybridation.

VIII. Pratiquement, les races de Levure de chaque vin sont capables de communiquer, aux jus de raisins qu'elles vinifient, certains caractères rappelant leur vin d'origine. Toutefois, l'importance de cette propriété ne doit pas être exagérée, car les principes apportés par les Levures sont peu accusés et souvent masqués par ceux dus à la constitution chimique des jus traités.

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — ADERHOLD (R.). — Untersuchungen über reine Hefen, 3, Teil. Die Morphologie der deutschen *Sacch. ellipsoideus* Rassen, *Landw. Jahrb.*, T. XXIII, 1894.
2. — BADIAN (J.). — Sur la cytologie des Levures. *Bull. intern. Ac. polonaise Sc. Lettres (Cl. Sc. Math. Nat.)*, I, p. 61-87, 1937.
3. — BARKER (P.T.P.). — A conjugaison Yeast. *Proc. of the Royal Soc.*, t, 68, 1901.
4. — DE BARY (A.). — Morphologie der Pilze. *Leipzig*. 1866.
5. — BERLESE (A.). — Verhalten der *Sacch.* an den Weinstöcken, *Rivista di pat. vegetali*. T. V, 1897.
6. — BOUTROUX (L.). — Sur l'habitat et la conservation des Levures spontanées. *Bull. de la Soc. linn. de Normandie*, 3<sup>e</sup> série. T. VII, 1883, et *Ann. des Sc. nat. Bot.* T. XVII, 1884.
7. — BREFELD (O.). — Die Hemiasci und die Ascomyceten. *Unters. ges. geb. Mykologie*. 1891.
8. — CAPITAIN (E.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique des Levures de poires. *Thèse de doctorat ès Sciences*. Lyon, 1930.
9. — CASAGRANDE. — Ueber Morphologie der Blastomyceten. *Centr. f. Bakt.* T. III, 1897.
10. — CAULLERY (M.). — Le problème de l'évolution. *Ed. Payot*, Paris, 1931.
11. — CHABORSKI (G.). — Recherches sur les Levures thermophiles et cryophiles. *Thèse de Doctorat ès Sciences*, Genève, 1918.
12. — CHODAT (R.) et LENDNER (A.). — Sur quelques Levures du vignoble genevois. *Arch. des Sc. phys. et nat.* Genève. 1900.
13. — COMBES (R.). — La vie de la cellule végétale. T. I, II et III. *A. Colin, édit.*, Paris.
14. — COMMANDON (J.) et DE FONTBRUNE (P.). — La chambre à huile, ses avantages pour l'étude des microorganismes vivants, la culture des tissus et la micromanipulation. *Ann. de l'Inst. Past.* T. 60, p. 113, 1938.
15. — CORDOC'H (Mlle M.). — Etude d'une Levure du genre *Zygosaccharomyces* : *Z. Ashbyii* n. sp. *Rev. gén. de bot.* T. 48, 1936.

16. — DANGEARD (P.A.). — Recherches sur le développement du périthèce. *Le Botaniste*, 10<sup>e</sup> série, 1907.
17. — DELAPORTE (Mlle B.). — Recherches cytologiques sur les Bactéries et les Cyanophycées. *Thèse Doctorat ès Sciences*, Sorbonne, 1939.
18. — DIENERT (G.). — Sur la fermentation de la galactose et l'accoutumance des Levures à ce sucre. *Ann. Inst. Pasteur*. T. XIV, 1900.
19. — DUBOURG (E.). — De la fermentation des Saccharides. *C.R. Ac. des Sc.* T. CXXVIII, 1899.
20. — DUCLAUX (E.). — *Traité de Microbiologie*. Ed. Masson, Paris, 1898.
21. — DUMAS et BOULLAY. — *Ann. de ch. et de phys.* T. XXVII, 1828.
22. — EFFRONT (J.). — L'influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures de sodium sur les Levures de bière. *C.R. Ac. des Sc.* T. CXVII, 1893, T. CXVIII et T. CXIX, 1894.
23. — ERRERA (L.). — L'épiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. *Thèse d'agrégation des Sciences*, Bruxelles, 1882.
24. — FANG SIN-FANG. — Étude de quelques Levures isolées de différents levains chinois. *Rev. de Mycol.* T. II, fasc. 5, oct. 1937.
25. — FORTI (C.). — *Stazione sperimentale agricola italiana*. 1891, T. XXI, p. 241.
26. — FUHRMANN (F.). — Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus*. I. Hansen, bei Sprossbildung. *Centr. f. Bakt.* II. p. 15, 1906.
27. — GAÜMANN (E.). — Vergleichende Morphologie der Pilze. Ed. G. Fischer, Iena, 1926.
28. — GORODKOWA (Mlle A.). — Über das Verfahren rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen. *Bull. Jard. Imp. Bot. Pétersbourg*, T. I, 1908.
29. — GUILLIERMOND (A.). — a) Recherches sur la structure de quelques champignons inférieurs. *C.R. Acad. Sc.* 21 janv. 1901.  
 b) Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. *C.R. Ac. Sc.* T. 133, 1901.  
 c) Considérations sur la sexualité de certaines Levures. *C. R. Ac. Sc.* T. 133, 1901.  
 d) Recherches cytologiques sur les Levures. *Thèse de Doctorat ès Sciences*, Sorbonne, 1902 et *Rev. Gén. de Bot.*, T. 16, 1903.

e) Recherches sur la germination des spores du *Saccharomycodes Ludwigii*. *Bull. Soc. Mycol. de France*, T. 19, 1903.

f) Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les Levures. *Rev. Gén. de Bot.* T. 17, 1905.

g) Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Endomycetacées. *Rev. gén. de bot.* T. 21, p. 363-401, 1909.

h) Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des Levures et quelques observations nouvelles sur la structure de ces champignons. *Centr. f. Bakt.* II, t. 26, 1911.

i) Sur une Levure à copulation hétérogamique. *C.R. Soc. Biol.*, t. 70, 1911.

j) Les Levures. *O. Doin, éd.*, Paris, 1912.

k) The Yeasts. *J. Willy, New-York*, 1920.

l) Clef dichotomique pour la détermination des Levures. *Le François, éd.* Paris, 1928.

m) Sur le genre *Zygosaccharomycodes* nouvellement créé par M. Nishiwaki. *Travaux dédiés à L. Mangin*, 1931.

n) Nouvelles observations sur le cycle de développement des Levures et considérations sur la phylogénie de ces Champignons. *Rev. Gén. de Bot.* 1936.

o) La sexualité, le cycle de développement, la phylogénie et la classification des Levures d'après les travaux récents. *Masson, éd.* Paris, 1937.

30. — GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de cytologie végétale. *Le François, éd.* Paris, 1933.

31. — GWYNNE-VAUGHAM (Mme H.). — Fungi : Ascomycètes, Ustilaginales, Urédinales. Cambridge, *at the University Press*. 1922.

32. — HANSEN (E. Ch.). — a) Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques : Sur le *S. apiculatus* et sa circulation dans la nature. *C.R. du lab. de Carlsberg*. T. I, livre 4, 1881.

b) Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours. *C.R. du lab. de Carlsberg*. T. I, 1882.

c) Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. *C.R. du lab. de Carlsberg*, T. II, 1883.

d) Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Méthodes pour obtenir des

cultures pures de *Saccharomyces*. *C.R. du lab. de Carlsberg*. T. II, 1886.

e) Ueber die im Schleimflusse lebenden Bäume beobachteten Mikroorganismen. *Centr. f. Bakt.*, T. V, 1889.

f) Nouvelles recherches sur la circulation du *S. apiculatus* dans la nature. *Ann. des Sc. nat. botanique*, 7<sup>e</sup> série T. II, 1890.

g) Experimental studies on the variation of Yeast-cells. *Read before the botanical section of the british. Association*, Ipswich, sept. 13, 1895.

h) Ueber die variation bei den Bierhefepilzen und bei anderen Saccharomyceten. *Zeitsch f. d. ges. Brau*; T. XXI, 1898, *Centr. f. Bakt*, T. IV, 1898.

i) Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques : la variation des *Saccharomyces*. *C. R. du lab. de Carlsberg*, T. V, livr. I, 1900.

j) Neue Untersuchungen über den Kreislauf der Hefearten in der Natur. *Centr. f. Bakt*, T. X. 1903.

k) Grundlinien u. Systematik d. Saccharomyceten. *Centr. f. Bakt*, T. CXXI, 1904.

l) Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation. *Centr. f. Bakt*. T. XV, 1905 et T. XVIII, 1907.

m) Ueber die Brutstättender Alkoholgärungspilze oberhalb. der Erde. *Centr. f. Bakt*. T. XIV, 1905.

33. — HARDEN (A.) et NORRIS (R.). — The fermentation of galactose by Yeast and Yeast-juice. *Proc. of the Royal Soc.* T. LXXXII, 1910.
34. — HUREL-PY (Mme G.). — Les réactions de Feulgen sur la cellule végétale. *Rev. de Cytol. et Cytophysiol. végét.* T. 2 fasc. I, p. 67 à 76, 1936.
35. — JOERGENSEN (A.). — Les microorganismes de la fermentation. 2<sup>e</sup> édition française. *Lamarre*, Paris. 1899.
36. — KAYSER (E.). — Les levures, 2<sup>e</sup> édition. *Ed. Masson*, Paris, 1906.
37. — KLÖCKER (A.). — Die Gärungsorganismen in der Théorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. *Berlin*, 1924.
38. — KNIEP (H.). — Die Sexualität der niederen Pflanzen. *G. Fischer*, Iéna. 1928.
39. — KRASSILNIKOV (N.). — Rassenbildung bei *Saccharomyces cerevisiae*. II. Die Rassebildung unter dem Einfluss superoptimaler Temperatur. *Bull. Ac. Sc. de l'U.R.S.S. Classe Sc. Mathém. et natur.*, 1934, 365.

40. — KRUIS (K.) et SATAWA (J.). — O vyvoji a kliceni spor. Jakog I, sexualité Kvasinek. *Praze*. 1918.
41. — LABORDE (J.). — Les variations de la production de glycérine pendant la fermentation alcoolique. *C.R. Ac. Sc. T.* 129, 1899, p. 344.
42. — LANGERON (M.). — Précis de Microscopie, 5<sup>e</sup> édition. *Masson* Paris, 1934.
43. — LAVOISIER. — Œuvres, tome premier. *Traité de chimie élémentaire*, p. 101, 1789.
44. — LINDNER (P.). — a) Das Wachstum der Hefen auf festen Nährboden. *Wochenschr. f. Brau.* T. X, 1893.  
b) Gärversuche auf verschiedenen Hefen und Zuckerten. *Wochenschr. f. Brau*, n° 17, 1900.  
c) Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsge Werben. *Berlin*, 1909.  
d) Atlas der Mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde. *Berlin*, 1910.
45. — LUTZ (L.) et GUEGEN (F.). — De l'unification des méthodes de cultures des Mucedinées et des Levures. *Bull. de Soc. mycol. de France*, T. XVII, 1901.
46. — MAC-KÄTER (J.A.). — Cytology of *Saccharomyces cerevisiae*. With spécial reference to nuclear division. *Biol. Bull. Woods Hole*, t. 49, 1927.
47. — MAIRE (R.). — Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Basidiomycètes. *Bull. de la Soc. mycol. de France*, T. XVIII, 1902.
48. — MANUEL (Mlle J.). — a) Sur la sexualité d'*Hansenula saturnus* et de quelques espèces du genre *Saccharomyces*. *C.R. Ac. Sc. T.* 203, p. III, 6 juillet 1936.  
b) Sur la sexualité des principales espèces du genre *Saccharomyces*, *Hansenula* et *Pichia*. *C.R. Ac. Sc. T.* 204, p. 1955, 28 juin 1937.  
c) Sur la formation de l'asque de *Nematospora Corylii* après un phénomène sexuel. *C.R. Ac. Sc. T.* 207, p. 1241, 12 décembre 1938.  
d) Sur l'hétérothallisme du *Saccharomycodes Ludwigii* *C. R. Ac. Sc.*, T. 209, 10 juillet 1939.
49. — MARCHAND (H.). — La conjugaison des spores chez les Levures. *Rev. Gén. de Bot.*, T. 25, 1913.
50. — MARTIN (E.M.). — a) Cytological studies of *Taphrina Corylii* Nishida on *Coryla americana*. *Wisconsin Ac. of Sc. arts. Lettres*, T. II, 1924.  
b) Cultural and morphological studies of some species of *Taphrina*. *Phytopathology*, T. 15, 1925.

51. — MARTINAND (V.). — *Bull. de l'assoc. des chimistes de sucrerie et de distillerie*, T. VIII, p. 182, 1889-90.
52. — MARX (L.). — *Moniteur scientifique*. Série 4, T. II, p. 1273, 1888.
53. — MEISSEL (M.). — a) Die Wirkung des Chlorophorms auf die Entwicklung der Hefe. *Wochensch. f. Brau.* 1928, 43.  
b) Wirkung der Cyansalze auf die Entwicklung der Hefe. *Centr. f. Bakt.*, II Abt. Bd. 88, 1933, 449.
54. — MOREAU et VINET. — *Guide de vinification rationnelle des vins blancs. Librairie des Sciences agricoles*, Paris, 1929.
55. — MÜLLER-THURGAU (H.). — a) Verhandlungen des deutschen Weinbau-Kongresses in Worms, Mainz, p. 128, 141 et 142, 1891.  
b) Ueber den Ursprung der Weinhefe. *Weinbau u. Weinh.* N° 40 et 41, 1889.
56. — MUSSO (L.). — *Contribution à l'étude des Levures algériennes. Thèse de doctorat ès Sciences*, Paris, 1913.
57. — NADSON (G.A.). — *Changement de caractères héréditaires provoqués expérimentalement et la création de nouvelles races stables chez les Levures. Ed. Hermann*, Paris, 1937.
58. — NADSON et KONOTINE. — *Etude cytologique sur les Levures à copulation hétérogamique du genre Nadsonia. Arch. Sc. nat. Bot.* T. 8, 1926.
59. — NEGRONI (P.). — *Sur une nouvelle espèce de Saccharomyces. S. annulatus. Arch. de parasit.*, T. 7, 1929.
60. — NITESCU (M.). — *Contribution à l'étude des Levures roumaines. Thèse de doctorat ès sciences*, Paris, 1915.
61. — ORSOS (F.). — *Die Form des tierfliegenden Bakterien und Hefencolonien. Centr. f. Bakt.*, T. LIV, 1910.
62. — OSTERWALDER (A.). — a) X, XI et XII Jahresbericht der Versuchstation für Obst Wein und Gartenbau in Wädenswil, *Zurich*, 1902.  
b) Neue aus Obst Trauben säften gewonne *Saccharomyces* Arten. *Centr. f. Bakt.*, t. 60, 2 abt., 1924.
63. — PASTEUR (L.). — a) *Mémoire sur la fermentation alcoolique. Ann. de chimie et de physique*. T. LVII et LVIII, 1859.  
b) *Etudes sur la bière. Paris*, 1876.
64. — PLANTEFOL (L.). — *La respiration chez les Levures. Rev. de cyt. et de cytophysiol. vég.* T. I, fasc. I, *Le François*, Paris, 1934.
65. — PORCHET (Mlle B.). — *Biologie des Levures provoquant la fermentation alcoolique à basse température. Ann. de Ferm. de l'Inst. Past.* T. 4, p. 578, 1938.

66. — RESS (H.). — Botan. Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze, *Leipzig*, 1870.
67. — RENAUD (J.). — a) Etude des races de Levures dans les vins blancs de Pouilly-sur-Loire. *Rev. gén. bot.* T. 47, 1935.
- b) Recherches morphologiques sur les Levures des vins du Val de Loire. *C.R. Soc. de biol.* T. GXXII, p. 402, 23 mai 1936.
- c) Sur un *Saccharomyces* présentant, dans sa sexualité, de curieuses anomalies dues à un état dicaryotique de ses zygospores. *C.R. Ac. Sc.* T. 204, p. 1274, 26 avril 1927.
- d) La Parthénogénèse dans quelques races de *Saccharomyces* isolées du vin. *C.R. Soc. biol.* 19 juin 1937. T. CXXV, p. 622.
- e) Sur l'existence du dicaryon, chez un *Saccharomyces* isolé du vin. *C.R. Ac. Sc.* T. 206, p. 1397, 9 mai 1938.
- f) La division du noyau chez les Levures au cours du bourgeonnement; mise en évidence d'un centrosome et de la mitose. *C.R. Ac. des Sc.*, T. 206, p. 1918, 20 juin 1938.
- g) Sur la microflore des Levures du vin. *C.R. Ac. des Sc.* T. 208, p. 1926, 12 juin 1939.
- h) La microflore des Levures du vin, son rôle dans la vinification. *La Presse médicale*, N° 76, 11 octobre 1939.
- i) Sur la stabilité des races de Levures de vin. *C.R. Soc. biol.* T. CXXXI, p. 681, 15 juin 1939.
68. — ROCHLIN (E.). — Über die Nuklealreaction bei Hefen. *Centr. f. Bakt. Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, II Abt. 1933, B-d. 88 p. 304 à 306.
69. — SAKSENA (R.K.). — Recherches physiologiques et cytologiques sur quelques espèces du genre *Pythium*. *Thèse Doctorat ès Sciences*, Paris, 1935.
70. — SALMON (Mlle J.). — Etude cytologique des laticifères des *Lactario-Russulées* et quelques observations sur les mitoses des basides. *Rev. de cytol. et de cytophysiol. végét.* T. II, fasc. 4, p. 376, 1937.
71. — SARAZIN (A.). — Evolution nucléaire de la baside et des basidiospores dans *Agaricus campestris* (var. cultivée). *C.R. Ac. Sc.* T. CCVI, p. 275. 1938.
72. — SATAWA (J.). — a) O redukovaných formach Kvasinek. *Praze*. 1918.
- b) Les formes sexuelles et asexuelles des Levures et leur pouvoir germinatif. III<sup>e</sup> Congrès de technique agricole. Paris, 1934.

73. — SCHILLER (N.). — Recherches sur la fermentation élective. *Thèse de doctorat d'Université*. Paris. 1924.
74. — SCHOELLHORN (K.). — Sur la fermentation de quelques Levures des nectars des plantes d'hiver. *Thèse de doctorat ès Sciences*, Genève. 1920.
75. — SCHOEN (M.). — a) Le problème de la fermentation. *Ed. Masson*, Paris, 1926.  
                   b) Problèmes de spécificité dans les processus de la fermentation. *Ann. de l'Inst. Past.*, Paris, T. XLVII, p. 690, 1931.  
                   c) Cours de Microbiologie et de Biochimie appliquées aux fermentations industrielles. *Inst. Past.* 1935.
76. — SCHOEN (M.), LACASSAGNE (A.), BÉRAUD (P.). — Contribution à l'étude des radio-races de Levures. *Ann. des Ferm. de l'Inst. Past. Paris*, T. 5, N° 3, 1939.
77. — SCHOENFELD. — La composition chimique de la Levure en relation avec la manière dont elle se comporte à la fermentation. *Wochenschr. f. Brauerei*, 29, 393, 1912.
78. — SEMICHON (L.). — La sélection physiologique des ferments par l'alcool. *Ann. de l'Inst. Past. de Paris*, T. XLIII, p. 1210, 1929.
79. — STEINER (J.M.). — Etude sur les Levures actives des vins valaisans. *Thèse doctorat ès Sciences*, Genève, 1924.
80. — STELLING-DEKKER (Mme N.M.). — Die Hefesammlung des Centraal Bureau voor Schimmelcultures. Beiträge zu einer Monographie des Hefearten. Die Sporogenen Hefen. *Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Afdeling Naturkunde*, T. 28, N° 1, 1931.
81. — STRUYCK (A.P.). — Ein neues Gärröhrchen und Gärfläschchen für die Bestimmung des Gärvermögens von Aeroben und Anaeroben Mikroorganismen. *Centr. f. Bakt.*, T. 94, p. 512, 1936.
82. — SWELLENGREBEL (M.). — Sur la division nucléaire de la Levure pressée. *Ann. Inst. Past.* T. 19, 1905.
83. — THÉNARD. — Mémoire sur la fermentation vineuse. *Ann. de ch.* T. XLVI, 1803.
84. — WIEBEN (M.). — Die Infektion, die Mycelüberwinterung und Kopulation bei Exoascen. *Forschungen a. d. Geb. d. Pflanzenkrank. heraus geg. v. Schaffnit.* Iéna, 3, 1927.
85. — WINGE (Ö.). — On haplophase and diplophase in some Saccharomycètes. *C.R. du lab. de Carlsberg, série physiologique* Vol. 21, N° 4, p. 77-112, 1935.

86. — WINGE (Ö.) and LAUSTEN (O.). — a) On two types of spores germination and on genetic segregations in *Saccharomyces* demonstrated through single-spore cultures. *C.R. du lab. de Carlsberg, série physiologique*. Vol. 22, N° 6, p. 99-119, 1937.
- b) Artificial species hybridization in Yeast. *C.R. du lab. de Carlsberg, série physiologique*. Vol. 22, N° 13, p. 235-247, 1938.
- c) On 14 new yeast types, produced by hybridization. *C.R. du lab. de Carlsberg, série physiologique*. Vol. 22, N° 21, p. 337-351, 1939.
- d) *Saccharomycodes Ludwigi* Hansen, a balanced heterozygote. *C.R. du lab. de Carlsberg, série physiologique*, Vol. 22, p. 357-369, 1939.
87. — WILL (H.). — Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. *Zeitschr. f. d. ger. Brauwesen*, Munich, II, T. XVIII, 1895.
88. — WORTMANN (J.). — Untersuch. über reine Hefen. *Landw. Jahrb. V. Teil*, T. XXI, 1892.
89. — YEN WEN-YU. — Recherches systématiques, biologiques et cytologiques sur les Ustilaginées de Chine. *Thèse Doctorat d'Université*, Paris, 1937.
-



## EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I. -- A. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Quincy (Cher).  
Grandeur naturelle.

- |    |                             |       |
|----|-----------------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> Quincy | N° 1. |
| 2. | —                           | N° 2. |
| 3. | —                           | N° 3. |
| 4. | —                           | N° 4. |
| 5. | —                           | N° 5. |

B. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Pouilly-Fumé (Nièvre).  
Grandeur naturelle.

- |    |                                   |       |
|----|-----------------------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> Pouilly-Fumé | N° 1. |
| 2. | —                                 | N° 2. |
| 3. | —                                 | N° 3. |
| 4. | —                                 | N° 4. |
| 5. | —                                 | N° 5. |
| 6. | —                                 | N° 6. |

Planche II. — A. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Pouilly-ordinaire (Nièvre). Grandeur naturelle.

- |    |                                        |       |
|----|----------------------------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> Pouilly-ordinaire | N° 1. |
| 2. | —                                      | N° 2. |
| 3. | —                                      | N° 3. |
| 4. | —                                      | N° 4. |
| 5. | —                                      | N° 5. |

B) Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Gris-Meunier (Loiret). Grandeur naturelle.

- |    |                                   |       |
|----|-----------------------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> Gris-Meunier | N° 1. |
| 2. | —                                 | N° 2. |
| 3. | —                                 | N° 3. |
| 4. | —                                 | N° 4. |
| 5. | —                                 | N° 5. |
| 6. | —                                 | N° 6. |

Planche III. — Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Mont (Loir-et-Cher). Grandeur naturelle.

- |    |                            |       |
|----|----------------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> Mont. | N° 1. |
| 2. | —                          | N° 2. |
| 3. | —                          | N° 3. |
| 4. | —                          | N° 4. |
| 5. | —                          | N° 5. |
| 6. | —                          | N° 6. |
| 7. | —                          | N° 7. |
| 8. | —                          | N° 8. |
| 9. | —                          | N° 9. |

Planche IV. — Colonies géantes des Levures isolées des vins de Vouvray (Indre-et-Loire). Grandeur naturelle.

- |    |                      |                    |       |
|----|----------------------|--------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> | Vouvray-Barre 1935 | N° 1. |
| 2. | —                    | —                  | N° 2. |
| 3. | —                    | —                  | N° 3. |
| 4. | —                    | Vouvray-Bourg 1935 | N° 1. |
| 5. | —                    | —                  | N° 2. |
| 6. | —                    | Vouvray 1936.      | N° 1. |
| 7. | —                    | —                  | N° 2. |
| 8. | —                    | —                  | N° 3. |

Planche V. — A. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Bourgueil (Indre-et-Loire). Grandeur naturelle.

- |    |                      |           |       |
|----|----------------------|-----------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> | Bourgueil | N° 1. |
| 2. | —                    | —         | N° 2. |
| 3. | —                    | —         | N° 3. |
| 4. | —                    | —         | N° 4. |
| 5. | —                    | —         | N° 5. |
| 6. | —                    | —         | N° 6. |

B. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin d'Anjou (Maine-et-Loire). Grandeur naturelle.

- |    |                      |       |       |
|----|----------------------|-------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> | Anjou | N° 1. |
| 2. | —                    | —     | N° 2. |
| 3. | —                    | —     | N° 3. |
| 4. | —                    | —     | N° 4. |
| 5. | —                    | —     | N° 5. |

Planche VI. — A. Colonies géantes des Levures isolées d'un vin de Muscadet nantais (Loire-Inférieure). Grandeur naturelle.

- |    |                      |                  |       |
|----|----------------------|------------------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> | Muscadet nantais | N° 1. |
| 2. | —                    | —                | N° 2. |
| 3. | —                    | —                | N° 3. |
| 4. | —                    | —                | N° 5. |
| 5. | —                    | —                | N° 5. |

B. Colonies géantes des Levures isolées des vins de Sauvignon (Cher) et de Saumur (Maine-et-Loire). Grandeur naturelle.

- |    |                      |           |       |
|----|----------------------|-----------|-------|
| 1. | <i>Saccharomyces</i> | Sauvignon | N° 1. |
| 2. | —                    | —         | N° 2. |
| 3. | —                    | —         | N° 3. |
| 4. | —                    | —         | N° 4. |
| 5. | <i>Saccharomyces</i> | Saumur    | N° 1. |
| 6. | —                    | —         | N° 2. |

Planche VII. — Dicaryon dans le *Saccharomyces* Quincy n° 6.

Fig. 1. — Mise en évidence du dicaryon dans une zygospore et dans les deux premiers bourgeons formés.  $g \times 1.800$ .

Fig. 2. — Les deux noyaux du dicaryon se divisent simultanément vers le premier bourgeon formé par la zygospore. Celle-ci n'étant pas rigoureusement horizontale sur la lame, la région de droite apparaît sombre.  $g \times 1.200$ .

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                                                         |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| I. — INTRODUCTION.....                                                                                                  | 9        |
| II. — HISTORIQUE.....                                                                                                   | 13       |
| III. — PREMIÈRE PARTIE. Monographie des Levures des vins du<br>Val de Loire.....                                        | 19       |
| MILIEUX ET TECHNIQUES.                                                                                                  |          |
| a) Prélèvements et milieux de culture .....                                                                             | 21       |
| b) Triage des races.....                                                                                                | 21       |
| c) Morphologie des cellules.....                                                                                        | 22       |
| d) Sporulation et phénomènes sexuels.....                                                                               | 23       |
| e) Températures maxima, optima et minima pour le bourgeonne-<br>ment et la sporulation. ....                            | 25       |
| f) Action des Levures sur les principaux sucres.....                                                                    | 26       |
| g) Détermination du degré alcoolique des vins obtenus avec les<br>différentes races isolées. ....                       | 28       |
| h) Les Colonies géantes.....                                                                                            | 29       |
| i) Techniques cytologiques.....                                                                                         | 30       |
| DESCRIPTION DES RACES ISOLÉES.                                                                                          |          |
| a) Races isolées des vins de Quincy (Cher).....                                                                         | 33       |
| b) Races isolées des vins de Pouilly-ordinaire (Nièvre).....                                                            | 40       |
| c) Races isolées des vins de Pouilly-Fumé (Nièvre).....                                                                 | 47       |
| d) Races isolées des vins de Sauvignon (Cher).....                                                                      | 55       |
| f) Races isolées des vins de Mont (Loir-et-Cher).....                                                                   | 61       |
| g) Races isolées des vins de Gris-Meunier (Loiret).....                                                                 | 71       |
| h) Races isolées des vins de Vouvray-Barre 1935 (Indre-et Loire)..<br>de Vouvray-Bourg 1935 (I.-et-L.).....             | 79<br>83 |
| i) Races isolées des vins de Vouvray 1936 (Indre-et-Loire).....                                                         | 87       |
| j) Races isolées des vins de Bourgueil (Indre-et-Loire).....                                                            | 91       |
| k) Races isolées des vins de Saumur (Maine-et-Loire).....                                                               | 99       |
| l) Races des vins d'Anjou (Maine-et-Loire).....                                                                         | 103      |
| m) Races isolées des vins de Muscadet nantais (Loire-Inférieure)... ..                                                  | 109      |
| IV. — DEUXIÈME PARTIE. Remarques générales sur la biologie<br>des Levures du vin et leur rôle dans la vinification..... | 115      |
| a) Caractères morphologiques des cellules.....                                                                          | 117      |
| b) La sporulation.....                                                                                                  | 118      |

|                                                                                      |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| c) Remarques biologiques et cytologiques sur la sexualité des<br>Levures du vin..... | 124     |
| d) Remarques sur les caractères biochimiques.....                                    | 142     |
| e) Les caractères des colonies géantes obtenues sur moût gélatiné<br>à 12 % .....    | 146     |
| f) La microflore des Levures du vin. Son rôle dans la vinification.                  | 148     |
| <br>V. — CONCLUSIONS.....                                                            | <br>159 |
| <br>VI. — INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....                                                 | <br>161 |
| <br>VII. — REPRODUCTION PHOTOGRAPHIQUE DES COLONIES<br>GÉANTES .....                 | <br>171 |

---

## DEUXIÈME THÈSE

---

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

La désintégration zymasique des glucides.

---

Vu et approuvé :

Paris, le 22 avril 1940.

*Le Doyen de la Faculté des Sciences.*

Ch. MAURAIN.

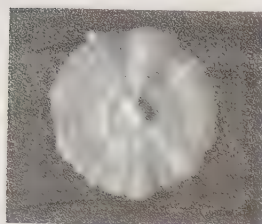
Vu et permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie de Paris.*

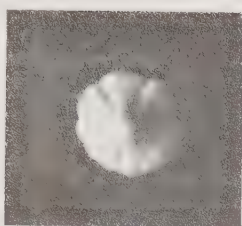
Paris, le 22 avril 1940

G. ROUSSY.

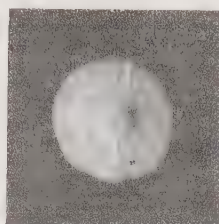




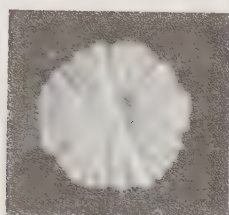
1



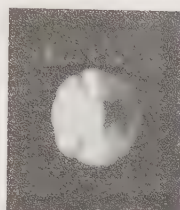
2



3



4

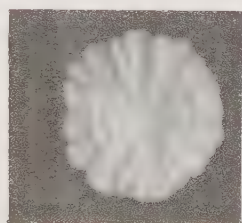


5

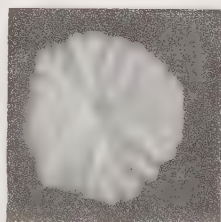
A) *Levures isolées d'un vin de Quincy (Cher).*



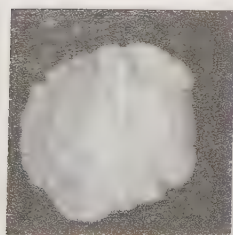
1



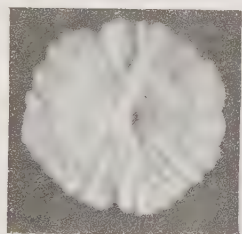
2



3



4



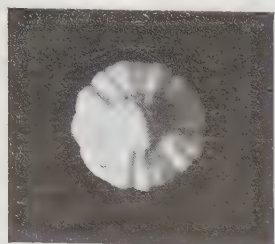
5



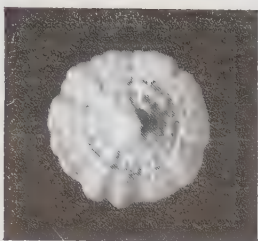
6

B) *Levures isolées d'un vin de Pouilly-Fumé (Nièvre).*

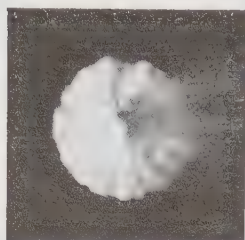




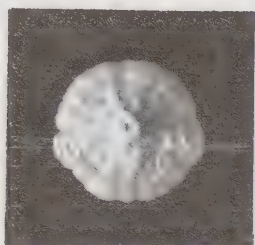
1



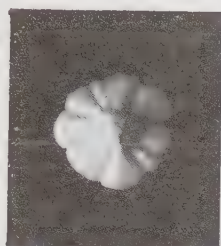
2



3

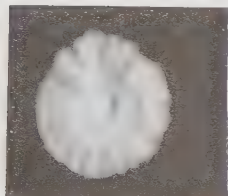


4

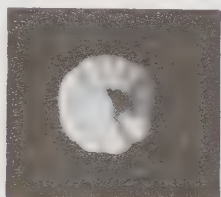


5

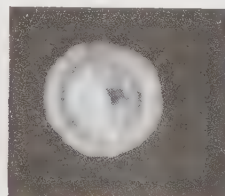
A) *Levures isolées d'un vin de Pouilly-ordinaire (Nièvre).*



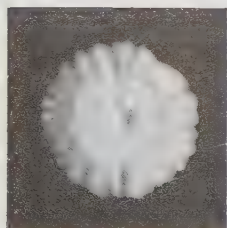
1



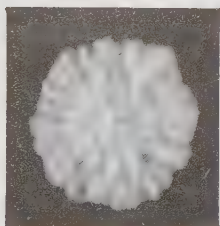
2



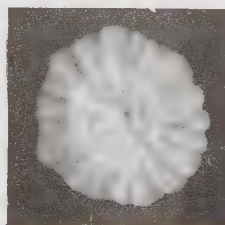
3



4



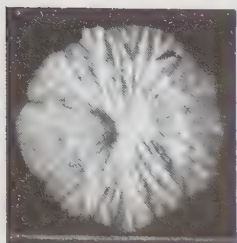
5



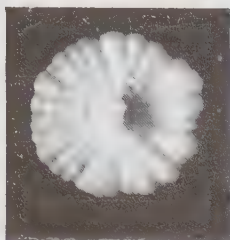
6

B) *Levures isolées d'un vin de Gris-Meunier (Loiret).*

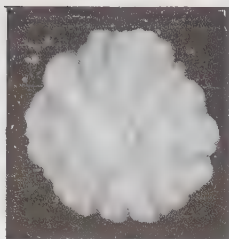




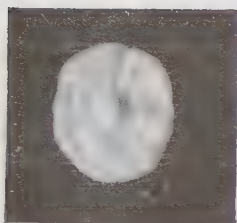
1



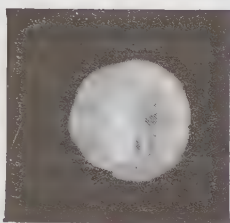
2



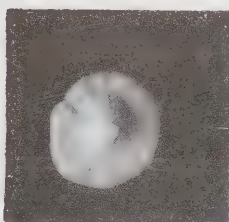
3



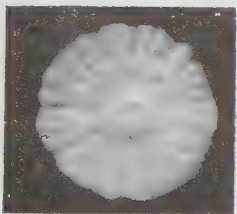
4



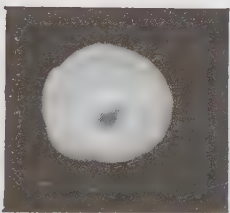
5



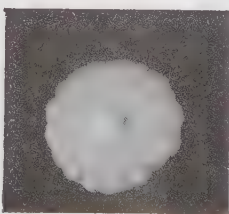
6



7



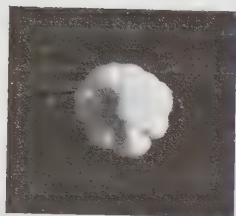
8



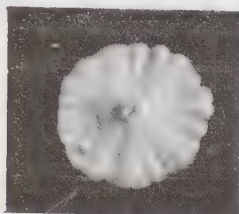
9

*Levures isolées d'un vin de Mont (Loir-et-Cher).*

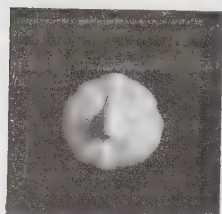




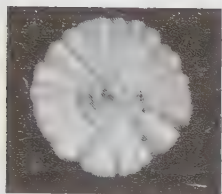
1



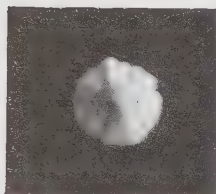
2



3



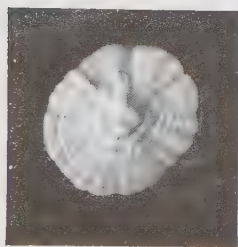
4



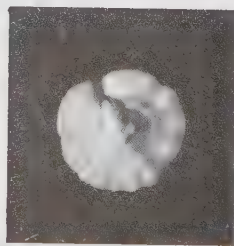
5



6



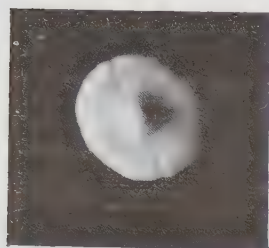
7



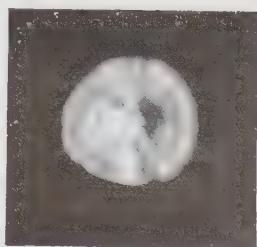
8

*Levures isolées des vins de Vouvray (Indre-et-Loire).*

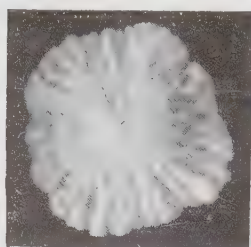




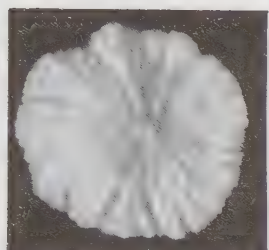
1



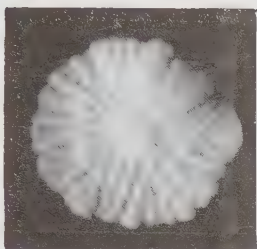
2



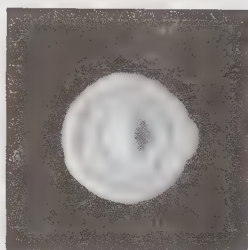
3



4

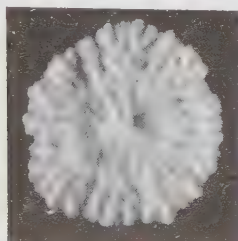


5

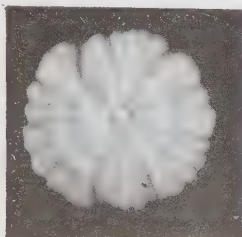


6

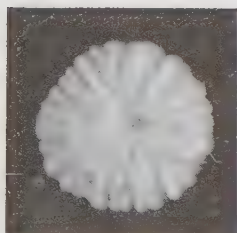
A) *Levures isolées d'un vin de Bourgueil (Indre-et-Loire).*



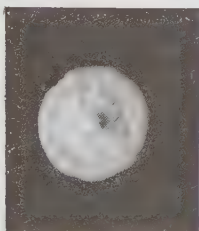
1



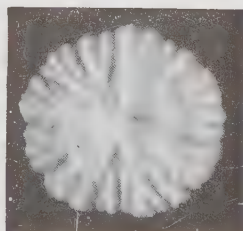
2



3



4



5

B) *Levures isolées d'un vin d'Anjou (Maine-et-Loire).*

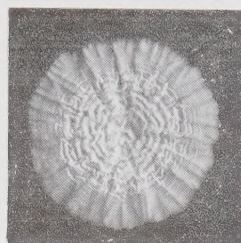




1



2



3

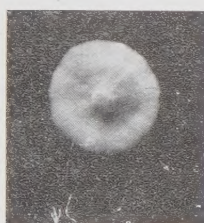


4

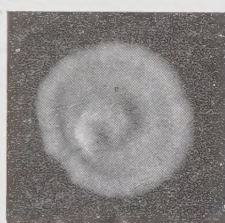


5

A) *Levures isolées des vins de Muscadet nantais (Loire-Inférieure).*



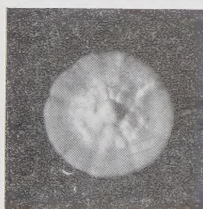
1



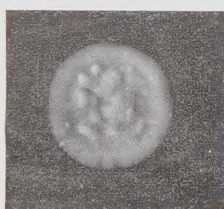
2



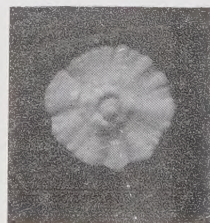
5



3



4



6

B) *Levures isolées des vins de Sauvignon (Cher) et Saumur (M.-et-L.)*





---

---

IMPRIMERIE  
ANDRÉ LESOT  
3, rue des Pliants, 3  
NEMOURS (S.-& M.)  
— et —  
10, rue de l'Éperon, 10  
— PARIS (VI<sup>e</sup>) —

---

---